

Aus der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt  
Pneumologie und Immunologie  
der Medizinischen Fakultät Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin

## HABILITATIONSSCHRIFT

### Die Bedeutung von *S. aureus* als Pathogenitätsfaktor bei der atopischen Dermatitis (AD)

Zur Erlangung der Venia legendi für das Fach Kinderheilkunde  
vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Dr. med. Rita Bunikowski  
aus Ochsendorf

Dekan: Prof. Dr. J.W. Dudenhausen

Gutachter: 1. Prof. Dr. R. Urbanek, Wien  
2. Prof. Dr. T. L. Diepgen, Heidelberg

eingereicht: 23.02.2001

Datum der Habilitation: 04.12.2001

## **Widmung**

Für meine Mutter Anna Bunikowski

## **Zusammenfassung**

Ziel der hier vorgelegten Untersuchung war es, die Bedeutung von *S. aureus*-Exotoxinen/Superantigenen als Pathogenitätsfaktor bei der AD zu analysieren, da kausalpathogenetisch ausgerichtete Experimentalansätze sowie systematische klinische Untersuchungen zu dieser Thematik bei Patienten mit AD ausstanden.

In einer Querschnittsstudie war eine Assoziation zwischen dem Grad der *S. aureus*-Besiedlung und dem Schweregrad der AD nachzuweisen. Von 74 Kindern mit AD waren 60 (81%) mit *S. aureus* kolonisiert. *S. aureus* Exotoxin-sezernierende Stämme wurden bei 40 Patienten (53%) von der Haut isoliert. Am häufigsten wurden SEA- und SEC-sezernierende Stämme nachgewiesen, gefolgt von SEB, TSST-1 und SED. Der ausgeprägteste Schweregrad der AD wurde in der mit Exotoxin-sezernierenden *S. aureus*-kolonisierten Gruppe beobachtet. Für die Schwere der Erkrankung, gemessen am SCORAD-Score wurde eine Varianzaufklärung von 30% für die Exotoxine und 50% für die *S. aureus*-Infektion errechnet.

In einer Subgruppe von Patienten wurde der Einfluß von *S. aureus*-Exotoxinen auf intradermale T-Zell-Rezeptor-V $\beta$ -Repertoire-Veränderungen untersucht. Bei den Patienten mit chronischer AD, die mit SEB-sezernierendem *S. aureus* besiedelt waren, war mittels immunhistologischer Untersuchung in der Haut nachzuweisen, dass zwischen 25% und 65% der intradermalen T-Zellen das zugehörige Superantigen-reaktive V $\beta$ -T-Zell-Repertoire gegenüber 5% bis 17% der T-Zellen im Blut exprimieren. Weder in der Haut noch im Blut war eine Akkumulation nicht-superantigenreaktiver T-Zell-Subpopulationen nachzuweisen. Auch fand sich keine selektive Akkumulation von V $\beta$ -T-Zell-Subpopulationen bei Kindern mit *S. aureus*-Kolonisierung ohne Exotoxinnachweis. Die Ergebnisse belegen, dass bei Kindern mit AD und positivem *S. aureus*-Exotoxinnachweis auf ekzematöser Haut ein Grossteil der dermal akkumulierten T-Zellen auf diese *S. aureus*-Exotoxine/Superantigene reagieren können und wesentlich an der Pathogenese der AD beteiligt sind.

In einer Teilpopulation bei 58 Kindern mit AD wurden Prävalenz und Rolle von Serum-IgE-Antikörpern gegen die *S. aureus*-Exotoxine SEA und SEB untersucht. Bei 34% der Kinder mit AD (20/58) konnten wir spezifische IgE-Antikörper gegen SEA und/oder SEB nachweisen (45% zu SEB, 10% zu SEA und 45% zu SEA und SEB). Alle gegen SEA und SEB sensibilisierten Kindern

waren mit *S. aureus* kolonisiert gegenüber 71% (27/38) der nicht-sensibilisierten Kinder. Der Grad der *S. aureus*-Besiedlung, die Prävalenz von SEB-sezernierendem *S. aureus* auf der Haut, sowie die Prävalenz von *S. aureus*-Hautinfektionen war in der sensibilisierten Gruppe höher. Die höchste Varianzaufklärung von 37% wurde zwischen dem Vorliegen von *S. aureus*-Hautinfektionen und dem Nachweis spezifischer SEA/SEB-IgE-Antikörper ermittelt; diese stellen somit einen Risikofaktor für eine Sensibilisierung gegen *S. aureus*-Exotoxine dar. Die SEA/SEB-sensibilisierte Gruppe zeigte einen höheren Schweregrad der AD, höhere Serum-Gesamt-Spiegel und eine polyvalente Sensibilisierung gegen Inhalations- und Nahrungsmittelallergene. Insgesamt belegen unsere klinischen, immunologischen und statistischen Ergebnisse, dass die *S. aureus*-Exotoxine einen wesentlichen Einfluss auf die Immunpathogenese der AD haben.

Eine orale Therapie mit CyA kann bei *S. aureus*-kolonisierten Kindern die *S. aureus*-Besiedlungsdichte reduzieren. In der *S. aureus*-infizierten Gruppe war die Prävalenz von Exotoxin-produzierendem *S. aureus* und die Krankheitsaktivität höher, wobei eine Verminderung der Besiedlung nicht beobachtet wurde.

Die Ergebnisse dieser Arbeit erlauben den Schluss, dass *S. aureus*-Exotoxine als Triggerfaktor die Exazerbation der AD im Kindesalter wesentlich unterstützen. Deswegen sollte in ein therapeutisches Konzept eine konsequente Prävention bzw. eine Behandlung von *S. aureus*-Infektionen einbezogen werden. Kinder mit bereits schwerer AD profitieren von einer immunmodulatorischen Therapie.

Schlagwörter:

Atopische Dermatitis, *Staphylokokkus aureus*, *Staphylokokkus-aureus*-Exotoxine, T-Zell-Rezeptor-V $\beta$ -Repertoire

## Abstract

**Background:** The skin of patients suffering from atopic dermatitis (AD) exhibits a striking susceptibility to colonization with *S. aureus*. Some strains of *S. aureus* secrete exotoxins with T cell superantigen activity (toxigenic strains) and abnormal T cell functions are known to play a critical role in AD.

**Objective:** The aim of this study was to determine the impact of exotoxin production by skin-colonizing *S. aureus* on disease severity and the presence of T-cell subsets in lesional skin. Furthermore, we investigated the effect of oral cyclosporin A in severe pediatric atopic dermatitis on disease severity and *S. aureus* colonization density.

**Methods:** In a cross sectional study of 74 children with atopic dermatitis, the presence and density of toxigenic and non-toxigenic strains of *S. aureus* was correlated with disease severity. In a subgroup of patients the T cell receptor (TCR) V $\beta$  repertoire of peripheral blood and lesional T cells was investigated and correlated with individual superantigen activity of skin colonizing *S. aureus*.

Furthermore, in a subgroup of patients, the presence of IgE antibodies to SEA and SEB was correlated with severity of the disease and the total and other unrelated allergen-specific IgE titers and density of colonization with *S. aureus* strains on atopic skin and episodes of superficial *S. aureus* skin infections.

Eleven children with severe AD (SCORAD score > 50) were treated for eight weeks with 2.5 to 5 mg/kg CyA. In five children the skin was only colonized with *S. aureus* whereas the remaining six patients had clinically relevant skin infections with requirement for systemic antibiotic therapy. The isolates from the latter patients were sensitive for the selected antibiotics. Clinical and microbiological investigations were performed before and after CyA therapy.

**Results:** 53% of children with AD were colonized with toxigenic strains of *S. aureus* producing SEC, SEA, TSST-1, SEB and SED in decreasing frequency. Children colonized with toxigenic *S. aureus* strains presented with higher disease severity as compared to the non-toxigenic and *S. aureus* negative groups. The influence of exotoxin production on the SCORAD score was determined as  $R^2 = 0.3$  (ie, 30% of the SCORAD score is explained by exotoxin production), whereas infection with *S. aureus* revealed  $R^2 = 0.5$ .

Patients colonized with toxigenic *S. aureus* exhibited shifts in the intradermal TCR V $\beta$  repertoire which correspond to the respective superantigen-responsive T cell subsets.

In a subgroup of patients, twenty of 58 children (34%) were sensitized to superantigens (45% to SEB, 10% to SEA, 45% to SEA and SEB). In this group, severity of AD and levels of specific IgE to food and air allergens were higher. The degree of disease severity correlated to a higher extent with the presence of SEA/SEB-specific antibodies than with total serum IgE levels. Density of colonization with superantigen-secreting *S. aureus* strains was higher in the superantigen IgE-positive group. Sixty-three of these children experienced repeated episodes of superficial *S. aureus* skin infections. The influence of *S. aureus* skin infection on the presence of SEA/SEB-specific antibodies was determined as  $R^2 = 0.37$  (ie, 37% of the the presence of SEA/SEB-specific antibodies is explained by *S. aureus* superficial skin infection).

In the group of patients, who were treated with CyA, clinical signs and symptoms of AD improved in all patients (mean SCORAD score reduction from 74 to 29). However, disease severity was more suppressed by CyA in the „colonized“ patients compared with the patients with clinical *S. aureus* infections. Furthermore, there was a significant decrease in *S. aureus* density on atopic skin after CyA treatment in „colonized“ patients but not in „infected“ patients. The prevalence of exotoxin producing strains was higher in the „infected“ group.

Conclusion: The data demonstrate that *S. aureus* released exotoxins can modulate disease severity and dermal T cell infiltration. Patients, suffering from AD may take profit from both consequent prevention or treatment of *S. aureus* skin infection as well as immunomodulating approaches.

Keywords:

atopic dermatitis, staphylococcus aureus, staphylococcal, T-cell receptor V $\beta$  repertoire

# Inhaltsverzeichnis

<b>VORWORT</b>	<b>1</b>
<b>1 EINLEITUNG</b>	<b>4</b>
1.1 Epidemiologie	4
1.2 Genetischer Hintergrund	5
1.3 Multiple Triggerfaktoren	6
1.4 Immunpathogenese	10
1.4.1 Dysregulation von T-Zellen	10
1.4.2 Zellinfiltration und Zytokinprofil in atopischer Haut	15
1.5 Therapie-Konzepte	19
1.5.1 Glukokortikoide	19
1.5.2 Calcineurin-Antagonisten	21
1.5.3 Th1-/Th2-Zytokinänderung durch Interferon-alpha und -gamma	23
1.5.4 Inhibierung der cAMP-Phosphodiesterase-Enzymaktivität	24
1.5.5 Sonstiges	25
1.5.6 Antibiotische Therapie	25
1.6 Einfluss der AD auf das soziale Umfeld der Kinder	27
1.7 Konzepte zur potentiellen Bedeutung von <i>S. aureus</i> und <i>S. aureus</i> -Exotoxine/Superantigene im Krankheitsgeschehen der AD	28
<b>2 ZIELE UND FRAGESTELLUNG</b>	<b>36</b>
<b>3 PATIENTEN UND METHODEN</b>	<b>38</b>
3.1 Studienpopulation	38
3.2 Mikrobiologische Diagnostik	38
3.3 Zusammenhang zwischen lokaler T-Zell-Rekrutierung und <i>S. aureus</i> -Exotoxin-Produktion	39
3.4 Analysen des T-Zellrezeptor-Vß-Repertoires mittels Durchflusszytometrie	40
3.5 Hautbiopsie	40
3.6 Nachweis von Serum-Gesamt-IgE und spezifischen IgE-Antikörpern	41
3.7 Cyclosporin A-Therapie und <i>S. aureus</i> -Besiedlung	41
3.8 Untersuchungen zur Lebensqualität der Eltern von Kindern mit schwerer AD	43
3.9 Statistische Auswertung	44

<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>45</b>
4.1	Einfluss von <i>S. aureus</i> -Besiedlung und <i>S. aureus</i> -Exotoxine	45
4.2	T-zellvermittelte Hautreaktionen auf <i>S. aureus</i> -Exotoxine	49
4.3	Spezifische Immunantwort gegen <i>S. aureus</i> -Exotoxine (SEA/SEB)	52
4.4	Effekt von Cyclosporin A-Therapie auf die <i>S. aureus</i> Besiedlung	59
4.5	Lebensqualität von Müttern mit Kindern schwerer AD	63
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>68</b>
	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>75</b>
	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>90</b>



## **Abkürzungsverzeichnis**

AD	Atopische Dermatitis
IL-2	Interleukin-2
IL-2R alpha	Interleukin-2-Rezeptor-{sonderzeichen 61537}
IL-3	Interleukin-3
IL-4	Interleukin-4
IL-5	Interleukin-5
IL-6	Interleukin-6
IL-9	Interleukin-9
IL-10	Interleukin-10
IL-13	Interleukin-13
IL-16	Interleukin-16
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IFN- $\alpha$	Interferon- $\alpha$
TNF- $\alpha$	Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$
MHC	Major-Histokompatibilitätskomplex
CLA	Cutaneous lymphocyte-associated antigen
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells
S. aureus	Staphylokokkus aureus
SAg	Superantigen
SEA	Staphylokokken Enterotoxin A
SEB	Staphylokokken Enterotoxin B
SEC	Staphylokokken Enterotoxin C
SED	Staphylokokken Enterotoxin D
SEE	Staphylokokken Enterotoxin E
TSST-1	Toxin-Schock-Syndrom-Toxin-1
IgE	Immunoglobulin E
MS	Multiple Sklerose
GM-CSF-2	Granulocytes-makrophages-colony-stimulating-faktor-2
GSF-1	Granulocytes-stimulating-faktor-1
Th1	T-Helfer-Zellen vom Typ1
Th2	T-Helfer-Zellen vom Typ2
APC	Antigen-präsentierende Zellen
MAS	multizentrische Allergie-Studie

CyA	Cyclosporin A
FKBP	FK-Binding Protein
ICAM	Intercellular adhesion molecule
VCAM-1	Vaskular cell adhesion molecule-1
PDE	Phosphodiesterase
TZR	T-Zell Rezeptor
V $\beta$	Variables Element der TZR-beta Kette
V $\alpha$	Variables Element der TZR-alpha Kette
mRNA	Messenger RNA
PHA	Phytohemagglutinin
Der pt	Dermatophagoides pteronyssinus
SLF	Sodium-Lauryl-Sulfat

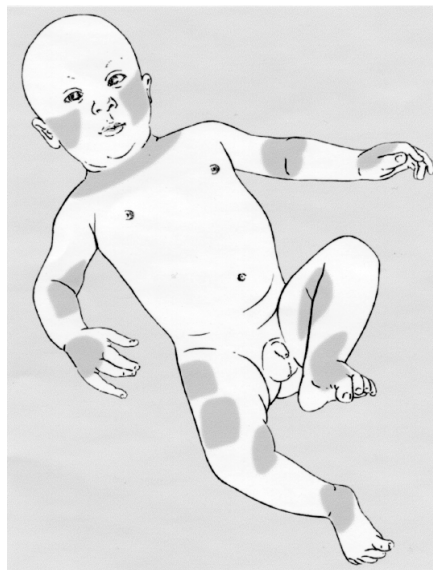
## **Vorwort**

Die atopische Dermatitis (AD) ist eine chronische rezidivierende, meist stark juckende Erkrankung der Haut, die sich im Kindesalter bezüglich ihrer Dauer und Intensität unterschiedlich manifestieren kann. Sie tritt in der Regel in den ersten sechs Lebensmonaten in Erscheinung, bei genetisch prädisponierten Kindern oft schon unmittelbar nach der Neonatalperiode. Die AD hat die höchste Prävalenz in den ersten vier Lebensjahren und kann in eine allergische Rhinokonjunktivitis oder in ein Asthma bronchiale übergehen (1,2). Wegen der heterogenen Natur der Erkrankung wurden 1980 von Hanifin und Rajka diagnostische Kriterien entwickelt, die die Einordnung des atopischen Ekzems erleichtern (3,4). Weltweit sind die klinischen Kriterien, nach Haupt- und Nebenmerkmalen aufgelistet, als klinischer Standard für die Diagnose akzeptiert. Bei Erfüllung von drei Haupt- und drei Nebenkriterien gilt die Diagnose atopische Dermatitis als gesichert.

Die Krankheit unterscheidet sich je nach Alter und unterschiedlicher ethnischer Zugehörigkeit des Patienten und verläuft meist episodenhaft, mit nächtlichen Kratzanfällen. Neben Extremvarianten (Erythrodermie) bestehen auch Minimalvarianten, z. B. Fingerkuppen- oder Fussekzem. Während der sehr frühen Krankheitsphasen kann die Diagnose ohne Kenntnis der Familienanamnese schwierig sein. Mit zunehmender Krankheitsdauer werden die Hautläsionen charakteristischer und die Diagnosestellung wird leichter. Während der ersten 6 Monate dominieren in der Regel symmetrische Läsionen im Gesicht, später zeigt das Ekzem Generalisierungstendenz. Im Krankheitsverlauf kann bei einigen Patienten die Ausbildung eines Ekzems auf die Nacken-Hals-Region, die Hände oder Gelenkbeugen beschränkt bleiben. Ausmass und Verteilung zeigen starke interindividuelle Schwankungen mit Perioden von Exazerbation und Remission.

Im Säuglingsalter ist differentialdiagnostisch an ein seborrhoisches Ekzem zu denken. Andere Krankheiten, die mit einem ähnlichen Ekzem einhergehen können - wie z. B. das Wiskott-Aldrich Syndrom - müssen aufgrund der jeweiligen anderen krankheitsspezifischen Merkmale ausgeschlossen werden.

Die Prognose der Erkrankung und die Schwere des Krankheitsbildes werden durch eine Reihe von Faktoren bestimmt. Patienten mit mehreren atopischen Familienmitgliedern, mit assoziiertem Asthma bronchiale oder allergischer Rhinitis, mit spätem Beginn der Ekzeme und mit trockener Haut tendieren zu einem ungünstigeren Krankheitsverlauf (5). **Abb. 1** zeigt das Verteilungsmuster des atopischen Ekzems bei Kindern.



**Abb. 1: Verteilungsmuster des atopischen Ekzems.** Die Schraffierung zeigt die besondere Lokalisation im Kindesalter an.

Durch verschiedene Einflussfaktoren kann eine Aggravation des atopischen Ekzems ausgelöst werden. Bekannte Faktoren sind starkes Schwitzen, Hitze, Fieber sowie Okklusion durch Salben oder Kleidungsstücke. Psychischer und körperlicher Stress kann sich ungünstig auf das Ekzem auswirken. Allergenexposition (z. B. Hühnerei, Kuhmilch im Säuglingsalter, später Pollen-, Schimmelpilz- oder Milbenkontakt) und Infektionen mit mikrobiellen Erregern können eine Exazerbation des Ekzems auslösen. Kleidungsstücke aus Wolle oder Synthetikstoffen können Ekzemverschlechterung bewirken, ebenso Genuss von starken Gewürzen, Zitrusfrüchten und Alkohol sowie Nahrungsmittelzusätze (5).

Immunhistologisch ist die AD durch die Ausbildung einer lokalen Entzündungsreaktion mit T-Zellinfiltration von überwiegend aktivierten CD4+-T-Zellen charakterisiert (6, 7). Immunologisch liegt eine Regulationsstörung von T-Zellen

zugrunde, die mit erhöhten Serum-IgE-Spiegeln und Eosinophilie assoziiert ist. Etwa 80% bis 85% der Patienten mit AD haben erhöhte Serum-IgE-Spiegel gegen Inhalations- und Nahrungsmittel-Allergene mit positiven Prick-Hautreaktionen (8-13).

Die Annahme eines genetischen Defektes wird durch Beobachtungen an Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom gestützt. Dieser seltenen Erkrankung liegt ein genetisch bedingter Immundefekt zugrunde, der mit Symptomen wie Thrombozytopenie mit Blutungsneigung, Eosinophilie, ekzematösen Hautveränderungen und gesteigerter Infektanfälligkeit einhergeht. Nach erfolgreicher Knochenmarkstransplantation verlieren die Patienten die charakteristischen klinischen Symptome (14). Ob die Atopie über hämatologische Mechanismen ausgelöst werden kann, ist in tierexperimentiellen und in humanen Studien belegt worden (14-17). In einer prospektiven Studie wies Agosti et al. das Risiko einer IgE-vermittelten Sensibilisierung über Transplantation von allogenen Knochenmark nach. Bei zwölf Patienten mit einer zugrunde liegenden malignen hämatologischen Erkrankung wurde eine notwendige Knochenmarktransplantation durchgeführt. Bei den Empfängern konnten nach erfolgreicher Transplantation eine anhaltende spendervermittelte Hausstaubmilben-Sensibilisierung, Exazerbation einer allergischen Rhinitis sowie das Neuauftreten von Asthma bronchiale beobachtet werden. Die Autoren der Studie vermuten, dass über die allogene Knochenmarktransplantation ein adoptiver Transfer von B-Zellen mit allergenspezifischem Gedächtnis vom Spender auf den Empfänger erfolgte und damit die Atopie induziert wurde (17).

# 1 Einleitung

## 1.1 Epidemiologie

Epidemiologische Studien zeigen, dass die Prävalenz atopischer Erkrankungen nach dem zweiten Weltkrieg bei Kindern weltweit kontinuierlich zunimmt (18-20). Burr und Mitarbeiter konnten einen dramatischen Prävalenzanstieg von atopischen Erkrankungen von 1973 (n=818) gegenüber dem Jahr 1988 (n=965) bei Kindern aus Wales/England nachweisen. Die Prävalenz der AD war bei den evaluierten Kindern von 5% auf 16%, die von Asthma bronchiale von 6% auf 12% und die von allergischer Rhinokonjunktivitis von 9% auf 15% angestiegen (20). In epidemiologischen Studien wurden für Nordeuropa bei 5% bis 20% der Kinder im Alter von 6 bis 7 Jahren und 13 bis 14 Jahren Symptome für eine AD evaluiert (21). Die „International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)“ ermittelte in 56 verschiedenen Ländern der Welt für Symptome der AD unterschiedliche Prävalenzen mit starken regionalen Schwankungen innerhalb der untersuchten Länder, aber auch Schwankungen im internationalen Vergleich. Europa zeigte unterschiedliche Prävalenzen mit deutlichem Nord-Süd-Gefälle: 8% für die nord- und osteuropäischen Staaten, 6% für die westeuropäischen Staaten und 3% für die östlichen mediterranen Länder. Für Latein- und Nordamerika wurden jeweils Prävalenzen von 8,5% nachgewiesen. Niedrige Prävalenzen mit 3% wurden für Südostasien und hohe mit 13% für die ozeanischen Staaten beobachtet. Besonders belastet waren industriell hoch entwickelte Länder wie Skandinavien, England, Japan, Australien und Neuseeland. Niedrige Prävalenzen wurden für Osteuropa, China und die Staaten Zentralasiens gefunden. In Übereinstimmung mit anderen epidemiologischen Studien zeigte die „ISAAC“ Studie folgende Geschlechtsverteilung: weiblich 1,3 : männlich 1.

In allen untersuchten Ländern wurden gleiche Symptome für die AD beschrieben; deshalb vermuten die Autoren der „ISAAC“ Studie, dass Umweltfaktoren und unterschiedlicher genetischer Hintergrund die Expression der AD determinieren (22).

## 1.2 Genetischer Hintergrund

Das Auftreten der AD im frühen Kindesalter sowie höhere Erkrankungsraten bei familiärer Atopiebelastung deuten auf einen genetischen Hintergrund der Erkrankung hin. Kinder von allergiekranken Eltern haben ein höheres Risiko, an atopischen Manifestationen zu erkranken. Sind z. B. beide Eltern durch eine allergische Erkrankung betroffen, so besteht für das Kind etwa ein Risiko zwischen 30% und 40%. Leiden beide Eltern an derselben atopischen Manifestationsform, z. B. atopisches Ekzem, so erhöht sich für das Kind das Risiko auf ca. 70%. Liegt nur bei einem Elternteil eine allergische Erkrankung vor, so besteht nur noch ein Risiko zwischen 20% und 40%. Das „Spontanrisiko“ für ein Kind gesunder Eltern mit gesunden Geschwistern liegt je nach Studie zwischen 5% und 17% (23, 24). In Zwillingsstudien wurde eine höhere Übereinstimmung bei monozygoten gegenüber dizygoten Zwillingen gefunden (25).

Für Patienten mit AD existieren wenige molekulargenetische Studien. In der deutschen Multizenterstudie „MAS 90“ konnte eine IL-13 codierende Region mit dem Phänotyp hohes IgE und AD identifiziert werden (26). Des weiteren wurde in der deutschen Multizenterstudie eine Mutation im proximalen Promoter vom C-C Chemokine Rantes nachgewiesen und das mutierte Allel war mit dem Auftreten einer AD assoziiert (27). Ein Zusammenhang mit dem Mastzellchymase-Gens (MCC) auf dem Chromosom 14q11.2 und der AD wurde beobachtet (28). Hershey et al. wiesen eine Mutation auf dem Interleukin-4-Rezeptor  $\alpha$  bei Patienten mit Hyper-IgE-Syndrom und bei Patienten mit AD nach (29). Forrest et al. überprüften bei 50 Familien genetische Faktoren, die einen Prädiktor für die AD darstellen könnten. Ein Zusammenhang zeigte sich bei Chromosom 5q31, der Region, in der Gene für die Zytokine Interleukin-4 (IL-4), IL-5, IL-9, IL-13, GM-CSF-2, GSF-1 und den „Interferon regulatory factor“ kodieren (30). Die Ergebnisse der humangenetischen Studien deuten auf einen multifaktoriellen genetischen Zusammenhang bei atopischen Erkrankungen hin. In den meisten Studien wird bestätigt, dass die Chromosomen 5q31-33, die die Zytokine der Th2-Zellen kodieren, bei der Expression der AD eine kritische Rolle spielen.

### 1.3 Multiple Triggerfaktoren

Während der Entwicklung einer allergischen Erkrankung eine oder mehrere genetische Komponenten zugrunde liegen, bedarf es weiterer Faktoren und Kofaktoren, die letztlich die phänotypische Manifestation der genetischen Prädisposition entstehen lassen.

Kinder aus Großfamilien mit älteren Geschwistern haben ein niedrigeres Risiko für die Entwicklung von allergischer Rhinokonjunktivitis, atopischem Ekzem oder allergischer Sensibilisierung gegenüber Inhalationsallergenen (31-35). Von Mutius et al. konnten in einer epidemiologischen Studie, die kurz nach der deutschen Wiedervereinigung durchgeführt wurde, zeigen, dass die Prävalenz von Atopie, Asthma, allergischer Rhinokonjunktivitis bei Kindern vom westlichen Lebensstil abhängig ist. Im regionalem Vergleich zwischen den alten Bundesländern (Westdeutschland) und den neuen (Ostdeutschland) war eine höhere Rate von allergischer Sensibilisierung (36,7% versus 18,2%) bei den westdeutschen Kindern nachgewiesen worden. Die Prävalenz für Asthma bronchiale und allergischer Rhinokonjunktivitis war höher für Westdeutschland (36). Für die AD wurde in den untersuchten Regionen keine unterschiedliche Prävalenz gefunden.

Die Daten aus dem Ost-West-Vergleich werden durch neuere Studien gestützt, die zeigen, daß höhere Familiengröße, schlechtere Wohnbedingungen (feuchte Wohnungen, Wohnbeheizung durch Kohle oder Holz, mit Familienmitgliedern geteiltes Schlafzimmer) sowie regelmäßiger Hundeaufenthalt in der Wohnung, negativ mit Atopie assoziiert sind (32-38). Die Autoren postulieren, dass aufgrund von beengten Wohnverhältnissen eine höhere Durchseuchung mit infektiösen Erregern stattfindet und damit die Ausbildung einer allergischen Sensibilisierung gemindert wird.

Dass unterschiedliche Lebensstile einen Einfluss auf die Prävalenz von atopischen Erkrankungen haben, wurde sehr eindrucksvoll bei Kindern aus Familien mit anthroposophischem Lebensstil demonstriert. Im Vergleich zu den Kindern der staatlichen Schulen waren bei Kindern der Rudolf-Steiner-Schule andere



Essgewohnheiten (höherer Anteil von Nahrung mit Lactobazillus), geringere Behandlungsepisoden mit Antibiotika und niedrigere Raten von Immunisierungen gegen Masern, Mumps und Röteln nachgewiesen worden. Basierend auf den niedrigeren Vakzinationsraten wurden bei ihnen höhere Prävalenzen von Maserninfektionen beobachtet. Gleichzeitig wurden bei diesen Kindern niedrige Prävalenzen für klinische Symptome des Asthma bronchiale, der AD und allergischer Rhinokonjunktivitis ermittelt. Sie zeigten weniger positive Reaktionen auf Allergene im Pricktest und im Blut waren seltener spezifische Antikörper nachzuweisen (39).

Für die ansteigende Prävalenz der atopischen Erkrankungen ist der Mechanismus noch unklar; am meisten wird die Th2-Hypothese favorisiert, dass bei Atopikern eine immunologische Dysregulation mit einem Überwiegen der Th2-Zytokine zu Ungunsten der Th1-Zytokine (IL-2, IFN- $\gamma$ ) vorliegt. Bei Patienten mit atopischen Erkrankungen ist ein erhöhter Anteil von allergen-spezifischen T-Helferzellen nachzuweisen, die Th2-Zytokine (z.B. IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 und IL-13) sezernieren. Daraus resultieren die immunologischen und allergologischen Charakteristika wie IgE-vermittelte Sensibilität, Eosinophilie und allergische Entzündung (40-43). Es wird vermutet, dass es über die Infektionskrankheiten zur Induktion von Th1-Zytokinen kommt, was die Ausbildung allergischer Erkrankungen mindert. Die Th1/Th2-Hypothese wird im wesentlichen durch drei epidemiologische Beobachtungen gestützt:

- Jugendliche mit positiver Anamnese für Maserninfektion (44), italienische Militärstudenten mit positiver Hepatitis A-Serologie (45), japanische Kinder mit Immunität gegenüber Tuberkulose (46) und Kinder mit geringeren frühkindlichen antibiotisch behandelten Infektionen (in den ersten 2 Lebensjahren) (47) zeigen eine niedrigere Prävalenz von atopischen Erkrankungen.
- Eine geringere Prävalenz von Allergien und Asthma bronchiale wird auch bei Th1-vermittelten Erkrankungen, z. B. bei Patienten mit multipler Sklerose (MS), beobachtet (48). Monozyten von Patienten mit MS sezernierten im Vergleich zu den Monozyten, die von gesunden Kontrollen und Atopikern stammen, höhere Titer von IL-12. Die Autoren der Studie vermuten, dass der protektive Effekt gegenüber allergischen Erkrankungen IL-12 vermittelt

ist. IL-12 ist ein wichtiger Th1-Induktor und das Zytokin kann auch die Th2-Zytokinsynthese inhibieren (49).

- Im murinen Modell konnte gezeigt werden, dass die apathogenen Lactobazillen eine Th1-Antwort auslösen und eine potente Sekretion von IFN- $\gamma$  und IL-12 induzieren können. Lactobazillen inhibieren eine antigen-induzierte IgE-Produktion über eine durch Makrophagen induzierte IL-12-Sekretion (50, 51). Aus diesen experimentiellen Ergebnissen wird gefolgert, dass eine probiotische Ernährung eine IL-12-vermittelte Th1-Immunantwort induzieren kann und darüber ein protektiver Effekt gegenüber der Ausbildung von allergischen Erkrankungen ausgeübt wird. Die Hypothese wird durch Ergebnisse epidemiologischer Studien gestützt; so konnte z. B. eine niedrigere Prävalenz von atopischen Sensibilisierungen bei estnischen Kindern gegenüber schwedischen Kindern nachgewiesen werden (52). Bei den estnischen Kindern wurde in einer Vergleichsstudie in der Mikroflora des Darmes ein höherer Anteil von Lactobazillus und ein geringerer Anteil von Clostridien nachgewiesen (53). Bei Kindern mit anthroposophischen Lebensumständen war eine niedrigere Prävalenz von atopischen Erkrankungen u. a. mit einem höherem Verzehr von lactobacillushaltiger Nahrung assoziiert (39). Eine finnische Interventionsstudie zeigte kürzlich, dass bei Kindern mit Milchallergie und AD mildere Symptome und geringere Zeichen von intestinaler Entzündung nachzuweisen waren, wenn die Milchformula mit Lactobazillus angereichert war (54). Bei Kindern mit hoher Exposition von Endotoxin-haltigem Hausstaub war ein höherer Anteil von  $\gamma$ -IFN-produzierenden Zellen im peripheren Blut nachzuweisen. Waren die Kinder mit hohen Konzentrationen von Hausstaub-Endotoxin exponiert, so waren weniger positive Reaktionen auf Allergene im Pricktest nachzuweisen. Aus in-vitro Studien ist bekannt, dass bakterielle Endotoxine sehr potente Induktoren von IL-12 und  $\gamma$ -IFN sind und damit die Ausbildung einer TH1-Immunantwort unterstützen können (55).

Zusammenfassend lässt sich aus den Ergebnissen der humangenetischen und epidemiologischen Studien ableiten, dass für die Expression des allergischen Phänotyps zwei wichtige Faktoren verantwortlich sind: die genetische

Prädisposition und Umwelteinflüsse. **Tabelle 1** gibt einen Überblick über epidemiologische Beobachtungen, die eine Th1/Th2-Hypothese stützen.

**Tabelle 1: Ergebnisse epidemiologischer Studien, die eine Th1/Th2-Hypothese stützen**

---

- höherer Geschwisteranteil erniedrigt das Risiko für Atopie, das für die erstgeborenen Kinder höher ist
  - inverse Korrelation zwischen Risiko für Atopie und bestimmten Infektionskrankheiten in der Kindheit
  - inverse Korrelation zwischen Risiko für Atopie und frühkindlicher Exposition von Th1-induzierendem Hausstaub-Endotoxin
  - inverse Korrelation zwischen Risiko für Atopie und Th1-induzierender lactobazillus-reicher Ernährung
  - erniedrigte Prävalenz von atopischen Erkrankungen bei Patienten mit Th1-vermittelter Erkrankung/multipler Sklerose
  - erhöhte Prävalenz von atopischen Erkrankungen bei Patienten mit westlichem Lebensstil
-

## 1.4 Immunpathogenese

### 1.4.1 Dysregulation von T-Zellen

Abnorme T-Zell-Funktionen tragen zur Pathogenese der AD bei, wobei die Immunregulationsstörung bei Patienten mit AD gut charakterisiert ist. In den initialen Studien wurden besonders die Funktionsstörungen der peripheren T-Zellen analysiert. Bei erwachsenen Patienten mit AD wurde im peripheren Blut eine erniedrigte CD4/CD8-T-Zell-Ratio mit einer erniedrigten CD8+-T-Zell-Population und verminderter zytotoxischer T-Zell-Funktion nachgewiesen (56, 57). Bei aktiver AD ist die ausgeprägte T-Zell-Aktivität mit erhöhter Expression des IL-2-Rezeptors assoziiert (58, 59). IL-2 bewirkt das Wachstum und die Proliferation der verschiedenen T-Zell-Populationen (40). Bei AD-Patienten war ein erhöhter Anteil von aktivierten und nicht-aktivierten CD4+-Lymphozyten im peripheren Blut nachzuweisen, wobei der Aktivierungsgrad der Lymphozyten mit der Krankheitsaktivität der AD korrelierte (59, 60). In In-vitro-Studien wurde eine verminderte Stimulationsfähigkeit der T-Zellen mit Mitogenen (z. B. PHA), die von AD-Patienten stammten, nachgewiesen (61).

PBMCs von Patienten mit AD produzieren abnorm hohe Spiegel von Makrophagen-Migrations-Inhibitionsfaktoren, die primär von aktivierten Th2-Zellen exprimiert werden und für die T-Zell-Aktivierung von essentieller Bedeutung sind (62). Periphere Blutmonozyten von Patienten mit AD zeigen eine verminderte Inzidenz von spontaner Apoptose und sind auch nicht fähig, nach Stimulation mit IL-4 adäquat mit einer induzierten Apoptose zu reagieren. Der Grund der verminderten Apoptose liegt in einer höheren Produktion von GM-CSF, das in den zirkulierenden Monozyten bei AD-Patienten nachgewiesen wurde (63).

Im Mittelpunkt der allergischen Entzündungsreaktion stehen die T-Zellen, B-Zellen sowie eosinophile Granulozyten und Mastzellen als Vertreter der Effektorpopulation. Die Zytokinproduktion von spezifischen T-Lymphozyten beeinflusst eine Vielzahl von Reaktionsabläufen, die zur Ausbildung des klinischen allergischen Phänotyps führen. CD4+-T-Helferzellen werden aufgrund ihrer Zytokinsekretionsmuster in verschiedene Gruppen eingeteilt: Th1-Zellen sezernieren IFN- $\gamma$  und IL-2, während Th2-Zellen unter anderem IL-4, IL-5 und IL-13

produzieren können. IL-4 ist zusammen mit IL-13 an der IgE-Produktion und -Regulation beteiligt. IL-4 induziert eine Expression des IL-4-Rezeptors auf der Oberfläche von B-Zellen und T-Zellen (40-43, 64). Eine Reihe von Studien weisen im peripheren Blut von Patienten mit AD eine erhöhte Frequenz von allergenspezifischen T-Zellen mit ausgeprägter Produktion von IL-4, IL-5 und IL-13 und wenig Produktion von IFN- $\gamma$  nach (65-68). IL-4 ist ferner einer der wichtigsten Differenzierungs- und Aktivierungsfaktoren für Mastzellen und basophile Granulozyten und wirkt damit auch auf der Ebene der Effektorzellen. Mastzellen, Basophile und Eosinophile können bei entsprechender Stimulation in funktioneller Abhängigkeit vom IgE selbst IL-4 freisetzen, sind damit aber an die Existenz der Th2-Zellen gebunden (69-72). Bei den B-Zellen agiert IL-4 als IgE-Isotyp-spezifischer Switching-Faktor, indem es die Expression von CD40, dem IL-4 Rezeptor, und die des niedrig affinen IgE-Rezeptors CD23 fördert und hochreguliert (73-77). Damit wird der Switch von der IgM- zur IgE-Produktion ausgelöst. Über IL-4 werden die verschiedenen endothelialen Adhäsionsmoleküle, wie z. B. VCAM-1, auf Endothelzellen stimuliert und hochreguliert. VCAM-1 ist ein wichtiges Adhäsionsmolekül für die Rekrutierung von eosinophilen und mononukleären Zellen (78, 79). IL-4 und IL-13 können die Produktion von Th1-Zytokinen inhibieren und CD23 auf den Monozyten und B-Zellen hochregulieren (80). In Fibroblasten stimulieren IL-4 oder IL-13 die Rantes-, Exotoxin- und Monozyten-Chemotaktik-Protein-1-Expression, wodurch die lokale eosinophile Infiltration in die Haut gefördert wird (81).

IL-5 erhöht die Überlebenszeit der eosinophilen Granulozyten (mit anderen Zytokinen) durch Verhinderung der Apoptose. IL-5 ist das bedeutendste Zytokin für die Eosinophilen-Differenzierung, -Proliferation und -Aktivierung und entfaltet seine biologischen Effekte insbesondere bei den allergischen Organreaktionen. IL-5 und GM-CSF sind ein wichtiger Promotor für die Differenzierung und vasculäre endotheliale Adhäsion der eosinophilen Granulozyten. IL-5 induziert eine Histaminfreisetzung bei basophilen Zellen (40, 82-84).

Die Th1-typischen Zytokine spielen eine wichtige Rolle bei der zellvermittelten Immunität und in der Abwehr von Viren, Bakterien und Parasiten, auf die eine partielle zytotoxische Immunantwort induziert wird (86-90). IFN- $\gamma$  fördert eine

Expression von MHC-Klasse-I- oder MHC-Klasse-II-Molekülen, wodurch Monozyten und Makrophagen aktiviert werden (91). Th1-Zellen sezernieren IFN- $\gamma$ , das bei der IL-4-vermittelten IgE-Produktion gegenreguliert. In vivo wurde eine signifikante inverse Korrelation zwischen IFN- $\gamma$ -Produktion und IgE-Serumkonzentration bei der AD gefunden (40, 92-94). IFN- $\gamma$  inhibiert die IgE-Synthese, die Produktion von Th2-Zellen sowie die Expression des IL-4-Rezeptors auf den T-Zellen (94). IFN- $\gamma$  und IL-12 sind für die Proliferation der existierenden Th1-Zellen essentiell, da IL-12 und IFN- $\alpha$  (co) Signale für die Entstehung der Th1-Effektorzellen zur Verfügung stellen (95, 96).

Hohe Allergenkonzentrationen stimulieren die Produktion von IFN- $\gamma$ , während bei niedrigen Dosierungen vorzugsweise eine IL-4-Produktion induziert wird. Eine Analyse der Zytokinproduktion von peripheren mitogen- und allergenstimulierten T-Zellen und T-Zellklone zeigen eine Dysregulation der IL-4-Sekretion mit Überproduktion von IL-4 und einer stark reduzierten Sekretion von IFN- $\gamma$  an (96).

Das initiale Th1- und Th2-Konzept war für die CD4<sup>+</sup>-T-Zellen konzipiert. Neuere Daten zeigen aber, dass dieses Konzept bei den allergischen Erkrankungen auch auf die CD8<sup>+</sup>-T-Zellen übertragbar ist (97-100).

Kostimulierende Signale, mediiert durch Oberflächenmoleküle auf antigenpräsentierenden Zellen und T-Lymphozyten, können ebenfalls zu unterschiedlichen Zytokinsekretionsmustern führen. So ist z. B. die Interaktion des Oberflächenmoleküls B7-2 auf den antigenpräsentierenden Zellen mit dem CD28-Antigen auf Lymphozyten mit einer Th2-Zytokinsekretion assoziiert, während die Interaktion mit B7-1/CD28 zur Th1-Zytokinsekretion führt (101-103). Bei Patienten mit AD war im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen die Expression von B7-2 (CD86) auf den B-Zellen deutlich höher. Langerhans-Zellen in läsionaler Haut exprimieren mehr B7-2 (CD86) als B7-1 (103, 104).

Leukozyten von Patienten mit AD haben eine erhöhte cAMP-Phosphodiesterase-Enzym-Aktivität (105-108). Diese abnorme Zellfunktion wird für die erhöhte IgE-Synthese der B-Zellen sowie die erhöhte IL-4-Produktion der

T-Zellen bei Atopikern verantwortlich gemacht, da in vitro die IgE- und IL-4-Produktion durch Einsatz eines Phosphodiesterase-Inhibitors reduziert werden kann (107, 108). Eine abnorme Phosphodiesterase-Enzym-Aktivität wurde bislang bei den Monozyten von AD-Patienten nachgewiesen und korreliert mit einer erhöhten Sekretion von IL-10 und Prostaglandinen  $E_2$ . In kultivierten PBMCs, die von AD-Patienten isoliert wurden, haben monozytenspezifisches IL-10 und Prostaglandin  $E_2$  die IFN- $\gamma$ -Sekretion erniedrigt (109).

Der allergische Phänotyp ist durch den Weg der allergischen Sensibilisierung, die Expression von Chemokinen im Gewebe und die Compartmentalisation der Immunantwort determiniert. Die Fähigkeit der Gedächtniszellen, in verschiedene Gewebe zu migrieren, ist sehr heterogen. Das gewebespezifische „homing“ wird durch Interaktion von verschiedenen exprimierten T-Zell-homing-Rezeptoren mit vaskulären endothelialen Zelloberflächenantigenen reguliert. Das Zelladhäsionsmolekül, das das „T-Zell-homing“ in der Haut festlegt, wird als „cutaneous lymphocyte-associated antigen“ (CLA) bezeichnet. T-Zellen, die aufgrund einer allergeninduzierten Reaktion in die Haut migrieren, exprimieren mehr CLA<sup>+</sup> als T-Zellen, die aus den Atemwegen von Patienten mit Asthma bronchiale isoliert wurden. Bei Patienten mit AD zirkulieren hohe Anteile von aktivierten CLA<sup>+</sup> T-Zellen (110, 111). Santamaria Babi et al. (112) analysierten die Expression von CLA bei zirkulierenden T-Zellen bei Patienten mit AD und bei Patienten mit Asthma bronchiale. Beide Patientenpopulationen waren gegen Hausstaubmilben sensibilisiert. Wenn die CLA<sup>+</sup> T-Zellen von den CLA<sup>-</sup> T-Zellen separiert waren, konnte eine hausstaubspezifische T-Zell-Proliferation bei den Patienten mit AD nur bei CLA<sup>+</sup> T-Zellen beobachtet werden. Im Gegensatz dazu wurde bei Patienten mit Asthma bronchiale eine hausstaubspezifische Proliferation nur bei CLA<sup>-</sup> T-Zellen nachgewiesen. Frisch isolierte CLA<sup>+</sup> T-Zellen von AD-Patienten exprimieren HLA-DR- Aktivierungsantigene und es ist eine spontane Produktion von IL-4, aber nicht von IFN- $\gamma$  nachzuweisen, während bei gesunden Kontrollpersonen dieser Zusammenhang nicht hergestellt werden konnte. Akdis et al. demonstrierten bei Patienten mit AD, dass CLA<sup>+</sup> T-Zellen CD4 oder CD8 exprimieren und spontan IL-5 sowie IL-13 sezernieren. Funktionell wird damit das Überleben der Eosinophilen verlängert und es wird eine IgE-

Produktion induziert (113). **Tabelle 2** gibt einen Überblick über die wichtigsten immunologischen Besonderheiten bei der atopischen Dermatitis.

**Tabelle 2: Immunologische Besonderheiten bei der atopischen Dermatitis**

---

- erhöhte IgE-Spiegel im Serum
  - Eosinophilie
  - erniedrigter Anteil von CD8+-Supressor/zytotoxischen T-Zellen
  - verminderte Funktion bei CD8+-Supressor/zytotoxischen T-Zellen
  - erhöhte T-Zellaktivierung mit Expression von IL-2R alpha und HLA-DR
  - Expansion von IL-4- und IL-5-sezernierenden Th2-Zellen
  - erniedrigter Anteil von IFN- $\gamma$ -sezernierenden Th1-Zellen
  - erhöhte Expression von CD23 auf mononukleären Zellen
  - chronische Makrophagenaktivierung mit erhöhter Sekretion von GM-CSF, PGE2 und IL-10
  - erhöhtes eosinophiles kationisches Protein im Serum
-



### 1.4.2 Zellinfiltration und Zytokinprofil in atopischer Haut

Bei Patienten mit AD ist immunhistologisch in klinisch unauffälliger Haut nur eine geringgradige perivaskuläre T-Zell-Infiltration nachzuweisen (114), während akute papuläre Hautläsionen durch ein interzelluläres Ödem (Spongiosa) der Epidermis charakterisiert sind. In läsionaler Haut präsentieren dendritische Antigen-präsentierende Zellen (APC) wie z. B. Langerhans-Zellen und Makrophagen an der Zelloberfläche gebundene IgE-Moleküle (115, 116). Eine geringgradige epidermale T-Zell-Infiltration wird häufiger beobachtet. Bei akuten Läsionen weist die Epidermis eine ausgeprägte perivaskuläre Infiltration mit T-Zellen, Monozyten und Makrophagen auf. Das lymphozytäre Infiltrat zeigt eine Prädominanz von CD3+-, CD4+- und CD45 RO+-T-Zellen, wobei die Expression von CD45 RO den vorangegangenen Antigenkontakt widerspiegelt (117). Zeichen von intraläsionaler Aktivierung mit Membranexpression von IL-2R-alpha- und HLA-DR-Molekülen sind bei den T-Zellen häufig nachzuweisen (118). Eosinophile, basophile und neutrophile Zellen werden sehr selten bei akuter AD in der Haut gefunden, während Mastzellen in unterschiedlichen Degranulationsstadien häufiger nachgewiesen werden. Chronisch lichenifizierte Haut ist durch eine hyperplastische Epidermis mit ausgeprägter Hyperkeratosis und geringer Spongiosa charakterisiert. Ein erhöhter Anteil von IgE-sezernierenden Langerhans-Zellen mit Makrophagen dominieren das mononukleäre Zellinfiltrat in der Epidermis (119, 120). In chronisch entzündlicher läsionaler Haut finden sich höhere Anteile von Eosinophilen, die mit einer Zytolyse und einem Release von granulärem Protein in die Epidermis eingebunden sind und zur Entstehung von Hautaffektionen beitragen (121-123).

An der Entstehung von ekzematösen Hautveränderung sind die Th1- und Th2-Zellen in sequentieller Aktivierung beteiligt. Im Vergleich zur Haut von gesunden Kontrollpersonen zeigt selbst die nicht veränderte Haut von Patienten mit AD einen erhöhten Anteil von Zellen, die IL-4 und IL-13, nicht aber IL-5, IL-12 oder IFN- $\gamma$ -messenger-RNA exprimieren (124, 125). Akute und chronisch läsionale Haut von AD-Patienten ist charakterisiert durch einen höheren Anteil von Zellen, die für IL-4-, IL-5- und IL-13-mRNA positiv sind (126). Im Vergleich zur akuten läsionalen Haut werden in chronisch läsionaler Haut höhere Anteile von

IL-5-, GM-CSF-, IL-12- und IFN- $\gamma$ -mRNA-exprimierende Zellen beobachtet (127-129). Bei der AD zeigt die akute T-Zell-Infiltration eine Prädominanz von IL-4- und IL-13-Expression, während die chronische Entzündung eine Prädominanz von IL-5-, GM-CSF-, IL-12- und IFN- $\gamma$ -Expression mit gleichzeitiger Infiltration von Eosinophilen und Makrophagen aufweist (126-128). Die erhöhte Expression von IL-12 in chronisch läsionaler Haut ist von Bedeutung, da IL-12 ein wichtiges Schlüsselzytokin bei der Entstehung von Th1-Zellen ist. Untersuchungen haben gezeigt, dass eosinophile Granulozyten in der Lage sind, biologisch aktives IL-12 zu produzieren, wenn sie mit Th2-Zytokinen, z. B. IL-4, stimuliert werden (129). Über eine erhöhte IL-12-Expression bei Makrophagen und Eosinophilen kann ein Switch in die Th1-Entwicklung bei chronischer AD induziert werden (130-132).

Grewe et al. analysierten die Zytokinexpression während der Entwicklung ekzematöser Hautveränderungen im Atopie-Patch-Test. Sie wiesen ein biphasisches Muster nach. Während initial die Expression des Th2-Zytokins IL-4 dominierte, war nach 49 bis 96 Stunden epikutaner Allergenapplikation die IL-4-Expression reduziert. Die Expression des Th1-Zytokins IFN- $\gamma$  zeigte eine gegenläufige Regulation (133). Ältere Atopie-Patch-Test-Reaktionen zeigten, dass einer verstärkten IFN- $\gamma$ -Expression eine vermehrte IL-12-Expression vorausging (126-128, 132).

Untersuchungen zum Zytokinprofil von allergenspezifischen T-Helfer-Zellen, die aus Atopie-Patch-Testreaktionen gewonnen wurden, zeigten, dass die Mehrzahl allergenspezifischer T-Zellen, die aus frühen Atopie-Patch-Test-Läsionen gewonnen wurden, Th2-Zytokine produzierten (133-135). Allergenspezifische T-Zellen aus chronisch läsionaler Haut oder aus älteren Atopie-Patch-Test-Reaktionen wiesen ein Th1- oder ein Th0-ähnliches Zytokinprofil auf (135). **Tabelle 3** gibt einen Überblick über die Zellinfiltrate und das Zytokinprofil bezogen auf die Entzündungsphase der atopischen läsionalen Haut.

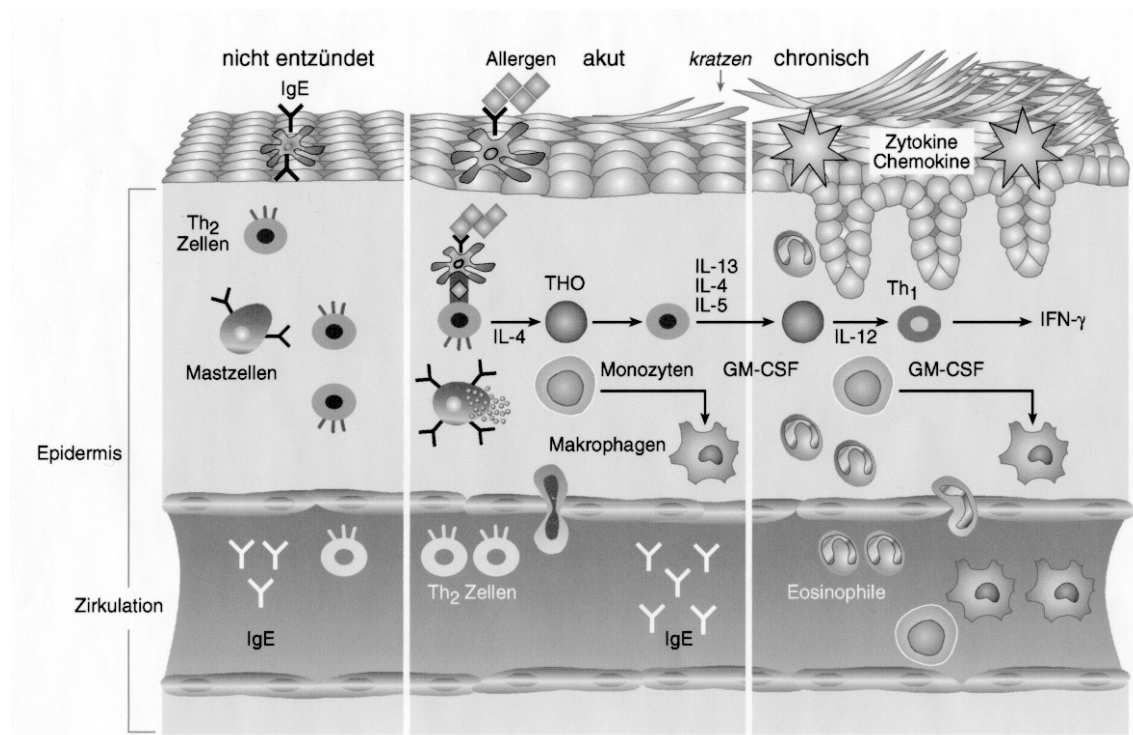
**Tabelle 3: Zellinfiltration und Zytokinprofil in atopischer läsionaler Haut**

	entzündliche Affektionen der Haut		
	nicht-entzündete	akute	chronische
<b>Zelltypen</b>			
T-Zellen	+	+++	++
Eosinophile	-	+	+++
Makrophagen	-	++	+++
<b>Zytokinexpression</b>			
IL-4/IL-13	+	++++	+++
IL-5	-	++	+++
Interferon- $\gamma$	-	-	++
IL-12	-	-	++
IL-16	+	+++	+++
GM-CSF	-	+	++

IL-16 ist ein potentes Zytokin, das eine selektive Chemotaxis von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen induzieren kann. Laberge und Mitarbeiter konnten nachweisen, dass IL-16-mRNA-positive Zellen im Vergleich zu chronisch entzündeter oder klinisch unauffälliger Haut in akut entzündeter läsionaler Haut überrepräsentiert sind. Der Anteil von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen war mit dem Anteil von epidermalen und dermalen IL-16-mRNA<sup>+</sup>-Zellen korreliert (136, 137).

Die chronische AD ist charakterisiert durch ein prolongiertes Überleben von Eosinophilen, Monozyten und Makrophagen in der atopischen Haut. Der Anstieg der IL-5-Expression spielt beim Übergang von akuter zur chronischer AD eine wichtige Rolle. Bei chronischer AD findet sich eine massive erhöhte Expression von GM-CSF (138). GM-CSF erhöht die Chance des Überlebens und die Funktion von Monozyten, Langerhans-Zellen und Eosinophilen. Eine erhöhte Produktion von GM-CSF bei epidermalen Keratinozyten und infiltrierenden Makrophagen konnte in Läsionen von atopischer Haut nachgewiesen werden (139, 140). Epidermale Keratinozyten produzieren, wenn sie simultan mit IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  stimuliert werden, erhöhte Anteile von Rantes, was die Chemotaxis für

die Eosinophilen erhöht (141). Dieses erklärt möglicherweise, wieso der Anstieg von IFN- $\gamma$  mit Chronizität und Schweregrad der AD assoziiert.



**Abb. 2: Immunologische Veränderungen in nicht-entzündeter, akuter und chronisch läsionaler atopischer Haut (modifiziert nach Leung).**

Die immunologischen Veränderungen in der Haut sind mit der Progression der AD assoziiert. Patienten mit nicht-entzündeter atopischer Haut zeigen eine Th<sub>2</sub>-Antwort mit erhöhtem IgE, Eosinophilie und niedriger Th<sub>2</sub>-Zytokin-Expression. In akuter läsionaler Haut ist eine massiven Infiltration mit Th<sub>2</sub>-Zellen, Eosinophilen, Monozyten und Makrophagen nachzuweisen. Es erfolgt ein Übergang in chronisch-läsionaler Haut mit erhöhter Expression von IL-12 und GM-CSF. Das Überleben von Eosinophilen, Monozyten und Langerhans-Zellen wird durch GM-CSF erhöht. IL-12 induziert einen Übergang in eine Th<sub>1</sub>-Antwort. In der atopischen Haut ist der biphasische Th<sub>2</sub>/Th<sub>1</sub>-Switch in der Immunantwort mit der Entwicklung von Lichenifikation, epidermaler Hyperplasie und dermalen Fibrose verbunden.

## 1.5 Therapie-Konzepte

Die Behandlung der allergischen Erkrankungen benötigt ein umfangreiches pharmakologisches Therapiekonzept, bei dem eine Expositionskontrolle von klinisch relevanten Inhalations- und Nahrungsmittelallergenen berücksichtigt werden sollte. Deshalb ist eine Identifizierung der Allergene und eine Eliminierung durch geeignete Maßnahmen, z. B. Eliminationsdiät, Expositionsprophylaxe, von klinischer Bedeutung (142-144).

Immuntherapien, z. B. mit Aeroallergenen, sind durchaus geeignet, eine Verschiebung der Th2-Antwort zur Th1-Antwort zu induzieren (145) und damit das allergische Krankheitsbild positiv zu beeinflussen. **Tabelle 4** gibt einen Überblick über die therapeutischen Behandlungskonzepte bei der AD.

**Tabelle 4: Therapeutische Strategien bei der Behandlung der atopischen Dermatitis**

- 
- **Immunsuppressive Medikamente, die die Zytokinexpression blockieren**
    - Glukokortikoide
    - Cyclosporin A
    - Tacrolimus
    - Ascomycin
  - **Änderung der Dysbalance zwischen Th1- und Th2-Zytokinen**
    - Interferon alpha
    - Interferon gamma
  - **Inhibierung der cAMP-Phosphodiesterase Enzymaktivität**
- 

### 1.5.1 Glukokortikoide

Der therapeutische Meilenstein in der Behandlung der AD ist eine Behandlung mit lokalen Steroiden. Die Kortisonbehandlung wird primär wirksam über eine Hemmung der Gen-Expression und die Produktion von multiplen Zytokinen (IL-1, TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF, Chemokine IL-8 und Rantes) (146-149).

Eine Hemmung der IL-1- und TNF- $\alpha$ -Sekretion wirkt einem inflammatorischen Zellrecruitment entgegen, da IL-1 und TNF- $\alpha$  bei vaskulären Endothelzellen eine Expression von Adhäsionsmolekülen induziert und ein Leukozyten-Recruitment triggert. Eine Hemmung von IL-3, GM-CS und IL-5 bewirkt eine verminderte Überlebenszeit und reduzierte Funktion von Eosinophilen und Basophilen. Eine Hemmung von IL-2 vermindert die T-Zell-Antwort, während eine Reduktion von IL-4 und IL-13 mit einer verminderten endothelialen Produktion von VCAM-1 einhergeht. VCAM-1 ist ein Adhäsionsmolekül, das beim Recruitment von Eosinophilen, Basophilen und Lymphozyten wirksam ist. Eine Hemmung der Chemokine ist mit verminderter transendothelialer Leukozytenmigration assoziiert (40, 146-149).

Bei Patienten mit schwerer AD kann eine lokale Steroidbehandlung manchmal nicht ausreichend sein, um das Ekzem hinsichtlich des Schweregrades zu kontrollieren, wobei die Umstände häufig unklar sind. In einer In-vitro-Studie konnte bei PBMCs, die von Patienten mit AD stammten, im Vergleich zu den PBMCs gesunder Kontrollen eine verminderte Glukokortikoid-Rezeptorbindung nachgewiesen werden. Durch Wirkung der Zytokine IL-2 und IL-4 wurde die Rezeptoraffinität noch stärker reduziert, wobei eine Minderung der Rezeptoraffinität rückläufig war, wenn kein Zytokineinfluss vorlag. Möglicherweise wird durch eine chronische Immunaktivierung eine Alterierung des Glukokortikoid-Rezeptors bei atopischen Patienten induziert (150, 151).

S. aureus-Exotoxine/Superantigene können die therapeutische Wirksamkeit von Glukokortikoiden mindern. In Anwesenheit der Superantigene SEB, SEE und TSST-1 wurde in In-vitro-Versuchen der therapeutische Effekt von Dexamethason, der mit einer Verminderung der Stimulationsfähigkeit von PBMCs assoziiert ist, deutlich reduziert. S. aureus-Exotoxine können die Expression des Glukokortikoid-Rezeptor- $\beta$  hochregulieren und zu ungunsten des Glukokortikoid-Rezeptor- $\alpha$  verschieben. Die verminderte Wirksamkeit der Glukortikoide ist über den Shift zu dem Glukokortikoid-Rezeptor- $\beta$  zu erklären, da eine Überexpression des Rezeptors mit einer Steroidresistenz korrelieren kann (152, 153). Möglicherweise basiert bei impetiginisierten Patienten mit AD die bessere

therapeutische Wirkung einer kombinierten lokalen antibiotischen und steroidalen Behandlung gegenüber einer isolierten antibiotischen oder steroidalen Behandlung auf diesem beschriebenen Pathomechanismus (154).

Wachs und Mitarbeiter wiesen in einer Studie nach, dass der beste therapeutische Effekt bei der AD dann eintritt, wenn die lokale Steroidtherapie mit einer staphylokokkenwirksamen antibiotischen Therapie verbunden wurde. Deutlich schlechter waren die Ergebnisse mit einer isolierten antibiotischen Behandlung gegenüber einer isolierten lokalen Steroidbehandlung. Bei einem Vergleich des bakteriellen Besiedlungsgrades war in allen drei Gruppen nach Beendigung der Therapie eine deutliche Reduktion der *S. aureus*-Besiedlung nachzuweisen (154). Mit lokaler Steroidtherapie konnte nur eine komplette *S. aureus*-reduzierende Wirkung erreicht werden, wenn sehr hochpotente Steroide eingesetzt wurden (155, 156).

### 1.5.2 Calcineurin-Antagonisten

Es gibt weiterhin eine Reihe von immunsuppressiv wirksamen Medikamenten, die bei der schweren AD eingesetzt werden können. Zu diesen Medikamenten werden die Calcineurin-Antagonisten Cyclosporin A, Tacrolimus und Ascomycin gezählt, die überwiegend als T-Zell-Suppressoren bekannt sind und einen komplizierten immunsuppressiven Wirkungsmechanismus haben. Die Calcineurin-Antagonisten sind Immunophilinliganden. Cyclosporin A bindet an das Immunophilin Cyclophilin an, während Tacrolimus an das Immunophilin „FK-Binding Protein“ (FKBP) und Ascomycin an Macrophilin 12 anbindet. Nach der molekularen Bindung gehen die einzelnen Arzneistoff-Immunophilin-Komplexe eine Bindung mit dem Enzym Calcineurin ein. Die Dephosphorylierung von Transkriptionsfaktoren wie NF-AT oder NF- $\kappa$ B durch Calcineurin bewirkt die Transkription von IL-2 und hemmt so die IL-2-Synthese (157, 158). Bei fehlendem IL-2 können Antigen-aktivierte T-Lymphozyten nicht proliferieren.

Neben seiner Wirkung als Wachstums- und Proliferationsfaktor hat IL-2 noch eine Reihe anderer Funktionen: es fördert zusammen mit anderen Zytokinen

die Proliferation und Antikörperbildung von B-Zellen, führt zu einer Aktivierung von Monozyten und Makrophagen und ist an der Ausreifung junger Thymozyten beteiligt (40). Die immunsuppressive Wirkung von Cyclosporin A, Tacrolimus und Ascomycin wird somit durch die Inhibierung der Synthese von IL-2 vermittelt.

In-vitro-Studien zeigen, dass die immunmodulatorische Wirkung von Cyclosporin A und Tacrolimus über eine Herunterregulierung der Gen-Expression für die proinflammatorischen Zytokine (IL-4, IL-5, IL-13 und IFN- $\gamma$ ) sowie der Th0-, Th1- und Th2-Antwort erfolgt (157-159). Auch für das Ascomycin ist die Wirksamkeit für eine Herunterregulierung von proinflammatorischen Th2-Zytokinen und eine Mastzellantwort belegt (158, 159).

Die gute Wirksamkeit von oralem Cyclosporin A bei der Behandlung der AD ist seit mehreren Jahren bekannt (160-162). Nebenwirkungen wie Nephrotoxizität, Hypertrichose, Leberfunktionsstörungen können eine längerfristige Therapie limitieren; deshalb wird die lokale Anwendung der Calcineurin-Antagonisten favorisiert. Bei der topischen Anwendung zeigte Cyclosporin A wegen der ungünstigen Galenik keine ausreichende Wirksamkeit (163).

Bei der topischen Anwendung wurden bessere Therapieerfolge mit Tacrolimus erzielt, das sehr gut in die Haut penetrieren kann (164-167). Die Wirksamkeit dieses Medikamentes ist vergleichbar mit einem potenten Steroid, wobei im Vergleich zur lokalen Steroidbehandlung keine Alteration der Kollagensynthese mit daraus resultierender Hautatrophie verursacht wird (168, 169). Bei einer topischen Anwendung mit 0,1% Verum war die beste Wirksamkeit nachzuweisen, wobei die therapeutische Wirkung unter dem Niveau von hochpotenten Steroiden lag (166). Studien für die topische Anwendung von Tacrolimus liegen für Erwachsene (164-166) und für Kinder vor (165, 167). Nach 4 Tagen Therapie konnte ein deutlicher Rückgang der allergischen Hautentzündung beobachtet werden. Der Juckreiz besserte sich zumeist nach 2 bis 4 Tagen. Schwerwiegende Nebenwirkungen traten in den Studien nicht auf (164-167). Ein Hautbrennen wurde als Nebenwirkung öfter beschrieben. In einer japanischen Anwendungsstudie mit 0,1% Tacrolimus wurden bei topischer Anwendung nach einer



einjährigen Therapiedauer bei ca. 5% der behandelten Patienten Tacrolimus-Blutspiegel nachgewiesen, die mit denen von transplantierten Patienten vergleichbar waren (170).

Über die topische Anwendung von Ascomycin (SDZ ASM981) liegen erste Studienergebnisse vor. In einer offenen pharmakokinetischen Studie wurden zwölf Patienten mit mittlerer und schwerer AD mit 1% Ascomycin über drei Wochen zweimal täglich lokal behandelt, wobei der beste therapeutische Effekt bei 1% Ascomycin ermittelt wurde (171-173). Erste pharmakokinetische Studien liegen auch für Kinder vor (174, 175). Die am häufigsten genannte Nebenwirkung war auch hier ein Brennen der Haut. Es wurde keine Alteration der Kollagensynthese nachgewiesen (176). Weitere Phase-III-Studien werden derzeit bei Kindern und Erwachsenen durchgeführt, um den therapeutischen Effekt und die Sicherheit bei der topischen Anwendung zu evaluieren.

Bei den topisch wirksamen Steroiden ist die *S. aureus* reduzierende Wirkung bei Patienten mit AD gut untersucht worden. Über den Einfluss von Calcineurinantagonisten auf die *S. aureus* Besiedlung der Haut liegen keine systematischen mikrobiologischen Untersuchungen vor.

### 1.5.3 Th1-/Th2-Zytokinänderung durch Interferon-alpha und -gamma

Ein weitere therapeutische Möglichkeit in der Behandlung von allergischen Erkrankungen besteht darin, das Th1- und Th2-Ungleichgewicht zu beeinflussen. Die Kandidatenzytokine, die eine Th1-Antwort induzieren, sind IL-12, IFN- $\gamma$  und IFN- $\alpha$ . Der Effekt von IL-12 auf die Th1-Antwort wurde bislang nur im In-vitro-Versuch überprüft. Rekombinantes IL-12 verminderte eine IL-4 stimulierte IgE-Sekretion bei humanen peripheren PBMCs (177).

Rekombinantes IFN- $\alpha$  wurde mit unterschiedlichen Effekten in kleinen unkontrollierten Studien eingesetzt, wobei nur bei einigen Patienten ein klinischer Erfolg zu verzeichnen war (178-180). Initial war ein kurzfristiger Anstieg vom Serum-IL2-Rezeptor mit einem Abfall von Serum-IgE, löslichem CD23 und

zellgebundenem IgE zu verzeichnen. In peripheren PBMCs wurde eine reduzierte Expression von HLA-DR und ICAM-1 beobachtet. Histologisch zeigte sich in der Haut ein diskreter Rückgang der epidermalen Inflammation (178). Erniedrigte Eosinophilenzahlen waren bei Patienten mit AD und hyper-eosinophilem Syndrom nachzuweisen (180, 181).

IFN- $\gamma$  hemmt eine Vielzahl von allergischen Reaktionen, einschließlich der Entwicklung der Th2-Zellen, der IL-4-induzierten IgE-Synthese und der Eosinophilen-Degranulation (40). In mehreren Studien war bei den Patienten mit AD nach täglicher subkutaner Verabreichung von rekombinantem IFN- $\gamma$  ein Rückgang der allergischen Hautentzündung nachzuweisen (182-185). Stabile therapeutische Effekte zeigten sich nach einer dreiwöchigen Therapie in einem Rückgang des Erythems, der Trockenheit und der Lichenifikation der ekzematösen Haut. Die Bluteosinophilie war nur transient rückläufig. Ein Abfall in den CD19- und HLA-DR-positiven T-Zell-Populationen wurde nachgewiesen. Eine ausgeprägte Verminderung von CD25-exprimierenden Zellen war mit einer klinischen Verbesserung des Hautzustandes assoziiert. Der wichtigste therapeutische Effekt von IFN- $\gamma$  wird in der Verminderung der exzessiven T-Zellaktivierung vermutet (184). Über 24 Monaten wurden in einer offenen Sicherheitsstudie 32 Patienten mit rekombinantem IFN- $\gamma$  behandelt. Es war eine deutliche Verbesserung des Ekzems mit Reduktion von Erythem, Ödem, Exkorationen, Trockenheit, Lichenifikation und des Juckreizes zu beobachten. Zusätzlich trat eine Verbesserung der allergischen Konjunktivitis sowie der allergischen Rhinitis bei den Patienten auf (185). Trotz guter therapeutischer Erfolge limitieren die hohen Kosten der immunmodulatorischen Therapie mit rekombinantem IFN- $\alpha$  oder IFN- $\gamma$  eine Anwendung in größerem Umfang.

#### 1.5.4 Inhibierung der cAMP-Phosphodiesterase-Enzymaktivität

Bei Patienten mit AD ist erhöhte cAMP-Phosphodiesterase Enzymaktivität (PDE) in den Monozyten nachgewiesen worden. Diese Befunde korrelieren mit einer erhöhten Sekretion von IL-10 und Prostaglandine E<sub>2</sub> (107-109). In-vitro-Studien haben gezeigt, dass hochpotente Phosphodiesterase-Inhibitoren die

erhöhte PDE-Aktivität reduzieren können (107). Es liegen die ersten Ergebnisse für die topische Anwendung von Typ-4-Phosphodiesterase-Inhibitoren vor. Im Vergleich zur Placebogruppe war bei 20 Patienten mit AD nach einer Anwendungsdauer von 28 Tagen ein deutlicher Rückgang des klinischen Scores (Erythem, Induration, Exkoration) nachzuweisen (108).

#### 1.5.5 Sonstiges

Es existieren einige anekdotische Fallberichte über eine erfolgreiche Behandlung mit intravenöser Verabreichung von hochdosierten polyvalenten Immunglobulinen bei schwerer therapieresistenter AD (186-188). Unter diesem Therapieregime war bei einigen Patienten der Rückgang des schweren atopischen Ekzems mit einer Minderung von IL-4-positiven CD4+-T-Zellen assoziiert (188).

Über den erfolgreichen Einsatz des Leukotriene-Antagonisten Zafirlukast liegen einige Fallberichte bei erwachsenen AD-Patienten vor (189).

#### 1.5.6 Antibiotische Therapie

Infektionen der Haut mit fungalen, viralen und bakteriellen Erregern können eine Exazerbation der AD auslösen. Virale Infektionen werden am häufigsten durch Herpes simplex, molluscum contagiosum und Papilloma-Viren hervorgerufen, wobei besonders die Herpes-simplex-Infektionen dazu neigen, sich von einer lokalen Infektion zu einer generalisierten Infektion auszuweiten (50, 190, 191). Rekurrierende Infektionen mit *Candida albicans* und auch kombinierte Infektionen mit *S. aureus* und *Candida albicans* wurden bei Patienten mit schwerer AD beobachtet. Mit einer kombinierten antibakteriellen und antifungalen Therapie wurden im Hinblick auf den Rückgang des schweren atopischen Ekzems gute Therapieerfolge bei den Patienten erzielt (192, 193). Dermatologisch sind bei der AD Kolonisierungen und Infektionen der Haut mit *S. aureus* bedeutsam (194-202).

Leyden u. Mitarbeiter konnten in einem Kollektiv von 70 Patienten bei 90% der Patienten eine *S. aureus*-Kolonisierung der Haut nachweisen. 45% der Fälle zeigten *S. aureus*-Besiedlungsdichten von über  $1 \times 10^6$  /cm<sup>2</sup> Haut. In dieser Studie wurde die höchste Besiedlungsdichte auf exsudativen Läsionen und lichenifizierter Haut nachgewiesen. Die Autoren fanden eine Aggravation des atopischen Ekzems bei einer *S. aureus*-Keimzahl von  $10^6$  /cm<sup>2</sup> Haut und bewerteten diese als mikrobiologisch kritischen Befund mit hohem Risiko für eine sekundäre Infektion (194). Gegenüber nicht befallener atopischer Haut wurde auf den dermatitischen, lichenifizierten und impetiginisierten Hautläsionen eine 100- bis 1000-fach höhere bakterielle Besiedlungsdichte diagnostiziert (194, 198). Personen mit persistierender *S. aureus*-Kolonisierung sind gefährdet, Hautinfektionen mit *S. aureus* zu entwickeln. Infektionen der Haut mit *S. aureus* sind mit einer Exazerbation der AD verbunden und klinisch charakterisiert durch Auftreten von Pusteln, Krusten, Eiter und erhöhtem Juckreiz der Haut (5, 200). Der kulturelle Nachweis von *S. aureus* in den Abstrichpräparaten und das Ansprechen auf eine staphylokokkenwirksame Therapie sichern die Diagnose bei den betroffenen Patienten. David und Mitarbeiter konnten in einer prospektiven Untersuchung bei 190 Kindern mit AD in einem Beobachtungszeitraum von zweieinhalb Jahren bei 32% rekurrierende *S. aureus*-Infektionen beobachten (200).

Eine staphylokokkenwirksame antibiotische Therapie hat einen stabilisierenden Effekt auf das impetiginisierte atopische Ekzem und ist mit einer Reduktion des klinischen Schweregrades verbunden (154, 193, 200, 201). In den einzelnen Therapiestudien konnte durch lokale oder systemische Behandlung mit einem staphylokokkenwirksamen Antibiotikum eine deutliche Reduzierung der *S. aureus*-Besiedlung erreicht werden, wobei eine vollständige Eradikation des Erregers nicht in allen Studien erreicht wurde. Lever und Mitarbeiter zeigten, dass nach der antibiotischen Therapie eine *S. aureus*-Rebesiedlung nach ca. zwei Wochen erfolgte. Etwa 17% der Patienten zeigten eine Rekolonisierung mit einem neuen Phagentyp. Nach vier Wochen antibiotischer Pause hatten die Patienten das gleiche prätherapeutische *S. aureus*-Kolonisierungsniveau erreicht, ohne dass eine klinische Verschlechterung im Studienverlauf beobachtet wurde (201).

Patienten ohne klinische Zeichen einer *S. aureus*-Infektion der Haut scheinen aber von einer zusätzlichen systemischen antibiotischen Therapie nicht zu profitieren (203, 204).

## **1.6 Einfluss der AD auf das soziale Umfeld der Kinder**

Eltern von Kindern mit AD sind aufgrund der chronischen Erkrankung ihrer Kinder in besonderer Weise belastet, da es eine Reihe unterschiedlichster Faktoren gibt, die zur Exazerbation der AD führen können. Neben der ständigen Suche nach Auslösern der Erkrankung stellen insbesondere Juckreiz, Kratzen und Schlafstörungen der Kinder sowie die Ungewißheit über den Verlauf der Erkrankung für die gesamte Familie eine Dauerbelastung dar. Auswirkungen der AD auf die psychische Verfassung von Eltern und betroffenen Kindern werden medizinisch allgemein angenommen, wurden aber bislang nur selten in geeigneten Studien untersucht.

Daud et al. konnten in einer Studie zeigen, dass bei Familien mit einem an AD erkrankten Vorschulkind das globale Stressniveau im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, in der keines der Kinder chronisch erkrankt war, deutlich höher lag. In der Gruppe der Eltern mit den an AD erkrankten Kindern wirkten sich aufgrund der chronischen Erkrankung die Belastungen negativ auf die Partnerschaft und das gesamte Familienleben aus. Die betroffenen Mütter beschrieben die Lebensumstände als allgemein schwieriger. Bei der Evaluierung von Stress, der von der kindlichen Erkrankung herrührte, erreichten sie deutlich höhere Werte, fühlten sich weniger sozial unterstützt und hatten mehr Schwierigkeiten, ein konsequentes Erziehungsverhalten zu zeigen. Die Ausprägung der Schwierigkeiten war abhängig von dem Schweregrad des Ekzems und wurde als temporäre Störung interpretiert, die bei Besserung des Hautzustandes reversibel war (205).

Lawson und Mitarbeiter wiesen in einer Studie mit 34 Familien mit Kindern, die an einem mittelschweren oder schweren atopischen Ekzem erkrankt waren, bei zwei Drittel eine familiäre Belastungssituation nach. Die Probleme bezogen sich

zu 74% auf die allgemeine Pflege, zu 63% auf Schlafstörungen und zu 54% auf das Verhalten des erkrankten Kindes. Ein Drittel der Familien gab Probleme in der familiären Verwandtschaft an und 23% der Familien hatten Urlaubsprobleme. Aufgrund der AD der Kinder waren 11% der Familien finanziell erheblich eingeschränkt (206).

Absolon et al. verglichen Schulkinder mit AD mit Kindern, die leichte Hauterkrankungen aufwiesen. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Schulkinder mit mittlerem und schwerem Ekzem mehr psychische Störungen aufwiesen als die Kinder in der Kontrollgruppe (207).

Eine australische Forschergruppe verglich Familien von Kindern mit AD mit denen von diabeteskranken Kindern. Die Gruppe der Familien mit Kindern, die an mittelschwerer oder schwerer AD litten, zeigten ein höheres familiäres Belastungsniveau. Berechnungen zur finanziellen Belastung (z. B. Milbensanierung, Diät) ergaben vergleichbare Sonderausgaben für Kinder mit AD und für Kinder mit Diabetes mellitus. Indirekte Kosten durch die Erkrankung des Kindes, wie z. B. Fernbleiben vom Arbeitsplatz oder auch Aufgabe der Arbeit, wurde in Familien mit Kindern mit mittelschwerer und schwerer AD drei- bis fünffach höher beziffert als in der Vergleichsgruppe der Diabetiker. Auch lagen die individuellen Kosten für die Kinder mit AD höher als für Kinder, die an Asthma bronchiale erkrankt waren (208).

Die verschiedenen Studien zeigen, dass die kindliche AD einen tiefgreifenden Einfluss auf die sozialen, emotionalen und finanziellen Perspektiven der Familie hat.

### **1.7 Konzepte zur potentiellen Bedeutung von *S. aureus* und *S. aureus*-Exo-toxine/Superantigene im Krankheitsgeschehen der AD**

Bei gesunder Haut besteht normalerweise gegenüber einer Kolonisierung und Invasion durch pathogene Keime ein Schutz, indem eine residente Bakterienflora einer Vermehrung von pathogenen Keimen entgegenwirkt. Auch gehört der Fettsäuremantel der Haut zu ihrer unspezifischen Resistenz (209, 210).

Welche mikrobiologischen und dermatologischen Faktoren sind mit Kolonisierungen und Infektionen mit *S. aureus* bei Patienten mit AD assoziiert? In den verschiedenen Studien korreliert die Kolonisierungsdichte der Haut mit Hyper- und Dyskeratosis, transepidermalem Wasserverlust, alterierter Talgdrüsensekretion und den verschiedenen Stadien der Hautläsionen der ekzematösen Haut. Die höchste Besiedlungsdichte war bei exsudativer ekzematöser Haut beobachtet worden (194, 198, 201, 211). Eine erhöhte Adhärenz von *S. aureus* konnte bei Corneozyten von AD-Patienten gegenüber gesunden Kontrollpersonen nachgewiesen werden und war mit fortgeschrittenem Stadium von Keratinisation der atopischen Haut verbunden (212, 213). Die bakterielle Adhäsion von *S. aureus* wird über verschiedene Zellwandproteine - z. B. Protein A, Elastin-binding-protein, Collagen-binding-protein und Fibronectin-binding-protein - vermittelt. Protein A, einer der Prototypen dieser Proteine, besitzt noch antiphaagozytäre Aktivität, die auf der Möglichkeit basiert, sich an die Fc-Komponente des Immunglobulins zu binden (214-218). Personen mit persistierender *S. aureus*-Kolonisierung haben auch ein erhöhtes Risiko, sich mit diesen Bakterien zu infizieren (214).

Patienten mit AD können IgE-spezifische Antikörper gegen *S. aureus* bilden. Falanga et al. wiesen bei Patienten mit aktiver AD eine positive Korrelation zwischen der Höhe der *S. aureus*-spezifischen IgE-Titer und der Höhe der *S. aureus*-Besiedlungsdichte nach (219). In einem pädiatrischen Kollektiv wurden bei 30% (19/64) der untersuchten Kindern mit AD *S. aureus*-IgE-Antikörper gegen Zellproteine von *S. aureus* im Serum gefunden. Der Nachweis von *S. aureus*-IgE-Antikörpern korrelierte mit schwerer Exazerbation der AD, höherem Gesamt-IgE-Titer, höherer Prävalenz von spezifischer IgE-Antwort auf Nahrungsmittelallergene sowie höherem Anteil von T-Helferzellen (220). Nissen und Mitarbeiter evaluierten in einer Querschnittsstudie bei Patienten mit AD die spezifische Antikörperbildung gegen *S. aureus*-Exotoxine und -Lipoteichoicssäure (*S. aureus*-Zellwandkomponente). In der Studie wurde bei 48% der untersuchten Patienten spezifisches IgE gegen Lipoteichoicssäure gefunden und 41% der Patienten zeigten eine positive Reaktion im Histamin-Release-Test. Aus diesen Befunden ist zu folgern, dass auch die *S. aureus*-Zellwand-Komponente

Lipoteichoinsäure wie ein klassisches Allergen agiert und eine spezifische Antikörperbildung induzieren kann (221). In **Tabelle 5** sind die wichtigsten Einflüsse von *S. aureus* zusammengefaßt.

**Tabelle 5: Einfluß von *S. aureus* bei atopischer Dermatitis**

- 
- persistierende *S. aureus*-Hautkolonisierung
  - Korrelation von quantitativer *S. aureus*-Besiedlung mit Schweregrad, Exazerbation und Serum-Gesamt-IgE
  - Auftreten von systemischen *S. aureus*-Infektionen bei impetiginisierter Haut
  - Antikörper gegenüber *S. aureus*-Zellwandprodukten bei 25% der Fälle
  - Korrelation von *S. aureus*-spezifischen Antikörpern mit Schweregrad, Exazerbation und Serum-Gesamt-IgE
  - positiver Histamin-Release basophiler Zellen bei Exposition mit Lipoteichoinsäure-spezifischem IgE (Lipoteichoinsäure/*S. aureus*-Zellwand-Komponente)
  - stabilisierende Effekte durch Antibiotika-Therapie bei impetiginisierter Haut
- 

*S. aureus* ist bekannt für seine Sekretion von bakteriellen Superantigenen. Die Superantigene gehören zu einer Gruppe von hochmolekularen Proteinen, die über ihre Fähigkeit zur T-Zellstimulation definiert werden (222). *S. aureus*-Exotoxine/Superantigene können eine alternative, hochpotente Stimulation der T-Lymphozyten bei Patienten induzieren. *S. aureus*-Exotoxine/Superantigene binden an die MHC-Klasse-II-Moleküle und führen zu einer direkten Stimulation der T-Zellen. Hierbei bindet das Superantigen an die V $\beta$ -Elemente des T-Zell-Rezeptors. Dieser Komplex kann nun direkt mit dem alpha/beta-T-Zell-Rezeptor (TCR) agieren. Die verschiedenen Superantigene (z. B. SEA, SEB, SEC, SED und TSST-1) können mit jeweils unterschiedlichen V $\beta$ -Elementen reagieren, wobei für jedes Superantigen eine spezifische reaktive V $\beta$ -Region bekannt ist. Im Vergleich zur konventionellen Antigenpräsentation ist dieser Typ von MHC-TCR-Interaktion nicht an das MHC-Molekül gebunden, sondern er agiert primär mit der V $\beta$ -Region des T-Zellrezeptors (223-225). Li und Mitarbeiter demonstrierten eine dreidimensionale Struktur des Komplexes zwischen der T-Zell-Rezeptor- $\beta$ -Kette und dem Superantigen SEB. Die Modelle des TZR-SEB-Peptide/MHC-Klasse-II-Komplexes zeigen, daß V $\alpha$  mit der MHC- $\beta$ -Kette in dem TZR-SAG-MHC-Komplex interagiert. Das Ausmaß dieser Interaktion ist variabel und durch die Geometrie der V $\alpha$ /V $\beta$ -Domäne determiniert. Die Variabilität wird



über eine bevorzugte Expression einer bestimmten  $V\alpha$ -Region bei den mit SEB reagierenden T-Zellen hergestellt (226). Die T-Zell-Rezeptor- $\alpha$ -Kette stabilisiert den TZR-Superantigen-MHC-Klasse-II-Komplex. Eine Expression einer bestimmten  $V\alpha$ -Region bei Superantigen-reaktiven T-Zellen regt möglicherweise über die TZR- $\alpha$ -Kette das Ausmaß der T-Zellaktivierung über eine Interaktion mit MHC an. Es konnte gezeigt werden, dass die TZR- $\alpha$ -Kette den TZR-SAG-MHC-Komplex stabilisiert, wobei das CDR2-Molekül der TZR- $\alpha$ -Kette für diesen Effekt verantwortlich ist. Die gesamte Stabilität des TZR-SAG-MHC-Komplexes wird durch eine Kombination von drei Interaktionen determiniert: TZR-SAG, SAG-MHC, und MHC-TZR (227).

Es ist bekannt, dass 5% bis 30% der T-Zellen (im Einzelfall noch höhere Anteile) über die Kapazität verfügen, mit *S. aureus*-spezifischen Superantigenen reagieren zu können. Dem steht eine konventionelle Antigenstimulation von 1:10000 gegenüber (228).

Bakterielle Superantigene sind als pathogenetische Faktoren zu bewerten, weil sie eine Reihe von Erkrankungen auslösen können. Als erste schwere, durch Superantigen getriggerte Erkrankung wurde in den 80er Jahren das Toxin-Schock-Syndrom identifiziert. Eine fokale Infektion mit Exotoxin-sezernierenden (TSST-1) *S. aureus* wurde überdurchschnittlich häufig gefunden und es war im peripheren Blut eine ausgeprägte Expansion von zirkulierenden  $V\beta 2$ -positiven T-Zellen nachzuweisen (Patienten ca. 70% versus Kontrollen ca. 5% bis 10%) (228, 229). Als pathogenetischer Faktor wird eine Verminderung des vasomotorischen Tonus mit erhöhtem kapillären „leak“ und daraus resultierendem Schock vermutet. Als Mediatoren werden die Zytokine IL-1 und TNF- $\alpha$  verantwortlich gemacht, deren Sekretion über TSST-1 oder andere *S. aureus*-Exotoxine bei Makrophagen und mononukleären Zellen induziert wird. Die kritische Rolle der T-Zellen liegt einerseits in einer massiven T-Zell-Stimulation durch die *S. aureus*-Exotoxine, was durch konventionelle Antigene nicht erreicht wird; andererseits können aktivierte T-Zellen große Mengen Lymphokine freisetzen, die bei der Induktion der Symptomatik involviert sind (224, 228-230). Superantigene können u. a. einen Einfluß auf das Kawasaki-Syndrom, die Psoriasis und die rheumatoide Arthritis haben (228).

Eine Reihe von Evidenzen legen die Vermutung nahe, dass *S. aureus*-Exotoxine als derartige T-Zell-Aktivatoren auch bei der AD agieren können. Aus mehreren mikrobiologischen Studien ist bekannt, dass ein hoher Anteil der Patienten mit AD mit *S. aureus*-Stämmen kolonisiert ist, die Exotoxine/Superantigene (SEA, SEB, SEC, SED, TSST-1) sezernieren (toxigenic *S. aureus*). Die Prävalenz variierte in den einzelnen Studien zwischen 37% und 70% für Patienten mit AD, wobei in den Kontrollgruppen eine niedrigere Prävalenz von Exotoxin-sezernierendem *S. aureus* nachgewiesen wurde (231-236).

*S. aureus*-Exotoxine/Superantigene zeigen in In-vitro-Studien unterschiedliche immunpathogenetische Einflüsse, die zur Ausbildung eines chronifizierten atopischen Ekzems beitragen können. **Tabelle 6** faßt die wichtigsten In-vitro-Einflüsse zusammen.

**Tabelle 6: In-vitro-Einfluss von bakteriellen Superantigenen bei atopischer Dermatitis**

- 
- Superantigene induzieren eine Sekretion von IFN- $\gamma$ , IL-1 und TNF- $\alpha$ , wobei diese Zytokine mit chronischer Hautentzündung assoziiert sind
  - Superantigene können CLA-Expression auf T-Zellen induzieren
  - Superantigene vermindern Apoptose von Monozyten und setzen prosurvivaltypische Zytokine (GM-CSF, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) frei
  - PBMCs von Atopikern zeigen im Vergleich zu PBMCs von Gesunden eine höhere Proliferation gegenüber Superantigenen
  - Hu-SCID-Maus-Modell: Gleichzeitige Applikation von Superantigenen und Der p<sup>t1</sup> induziert stärkere Hautinflammation als isolierte Applikation von Superantigen oder Allergen
  - Superantigene induzieren Steroidrezeptorresistenz
- 

<sup>1</sup> dermatophagoides pteronyssinus

Zusätzlich zur klassischen Funktion können Superantigene auch als konventionelle Antigene agieren und eine spezifische IgE-Antikörperbildung induzieren. In Zellkulturmodellen konnte gezeigt werden, dass Superantigene die IgE-vermittelte Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten von entsprechend sensibilisierten Patienten fördern können (232).

In einem humanen-SCID-Maus-Modell für allergische Immunantworten konnte gezeigt werden, dass im Hinblick auf die Induktion einer kutanen Entzündungsreaktion *S. aureus*-Superantigene und konventionelle Allergene sich addieren (237).

Superantigene können nicht nur T-Zellen aktivieren und eine spezifische IgE-Immunantwort induzieren, sondern sie reagieren mit einer Reihe von Targetzellen wie z. B. Langerhans-Zellen, Makrophagen, Keratinozyten, Fibroblasten und T-Zellen in der Haut. Im Gegensatz zur gesunden Haut können Keratinozyten in inflammatorischer Haut das intrazelluläre Adhäsions-Molekül-1 (ICAM-1) und HLA-DR exprimieren (238, 239). IFN- $\gamma$  ist der einzige bekannte Mediator, der HLA-DR in diesen Zellen zu induzieren vermag. IFN- $\gamma$  kann eine Hochregulierung von MHC-Klasse-II-Molekülen in den verschiedenen intradermalen Zellen beeinflussen und induziert eine Makrophagenaktivierung (239). Auch die Langerhans-Zellen, Keratinozyten und die Monozyten/Makrophagen können HLA-DR exprimieren. Diese Zellen können durch Superantigene stimuliert werden, proinflammatorische Zytokine wie IL-1 und TNF- $\alpha$  zu produzieren (238-241). Beide Zytokine sind dafür bekannt, durch die Induktion von endothelialen Adhäsions-Molekülen (ICAM-1 und VCAM-1) eine allergische Spät-Phase-Reaktion zu induzieren (78, 79, 242).

Lester et al. demonstrierten, dass TSST-1 die IL-4-induzierte IgE-Synthese bei AD- und Kontroll-PBMCs hemmt. Die Hemmung war assoziiert mit einer Induktion einer IFN- $\gamma$ -Synthese durch das TSST-1. PBMCs von gesunden Kontrollpersonen produzierten mehr IFN- $\gamma$  als PBMCs die von Patienten mit AD gewonnen wurden. Neutralisierende Antikörper von IFN- $\gamma$  erreichten bei den Kontroll-PBMCs einen Rückgang des TSST-1 Effekts, jedoch nicht bei den PBMCs, die von den AD-Patienten stammten. Die bei den Patienten-PBMCs eingesetzten Anti-IFN- $\alpha$ -Antikörper hoben die Suppression der IgE-Synthese durch TSST-1 auf; jedoch konnte dieser Effekt bei den Kontroll-PBMCs nicht festgestellt werden (243). Hofer et al. konnten nachweisen, dass PBMCs, die von Patienten mit Inhalationsallergien gewonnen wurden und die mit TSST-1 stimuliert wurden, vermehrt allergenspezifisches IgE produzieren (244). Weiterhin induzierte TSST-1 bei den B-Zellen eine B7-2-Expression. Dieses kostimulierende

Molekül ist bei der Th2-Antwort und bei der IgE-Synthese involviert (101-103). Eine andere Arbeitsgruppe reproduzierte wieder kontroverse Ergebnisse und zeigte über SEA- und SEB-Einfluß bei atopischen PBMCs eine Suppression von IL-4-induzierter IgE-Synthese (245).

Bright und Mitarbeiter konnten über Superantigen-Einfluß eine antigenspezifische Th1-Antwort über eine IL-12-Produktion bei Makrophagen auslösen (246).

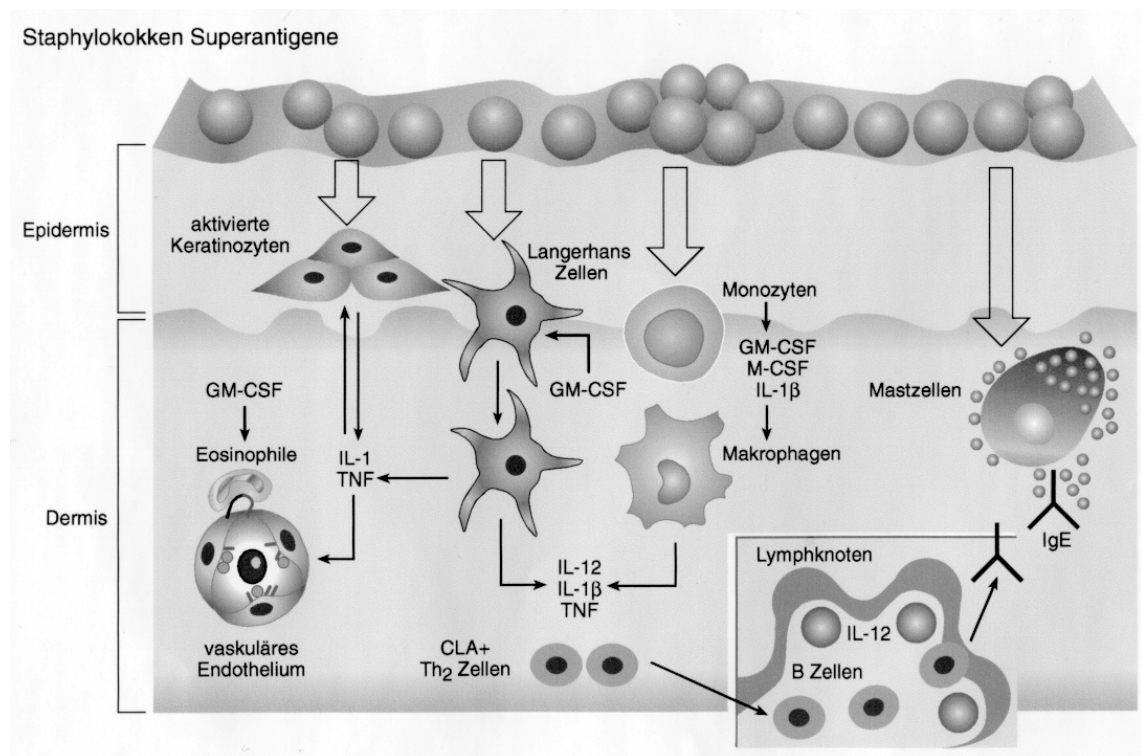
Superantigene induzieren eine Expression des „skin-homing receptors“ und fördern damit die T-Zellinfiltration in die Haut (247). Akdis und Mitarbeiter demonstrierten, dass CD8+CLA+ T-Zellen, die aus der läsionalen Haut und aus dem peripheren Blut von AD-Patienten gewonnen wurden, unter Superantigen-Einfluß proliferieren und eine potente IgE-Antwort sowie ein verlängertes eosinophiles Überleben induzieren. In ex vivo konnte eine spontane Proliferation mit einer hohen Sekretion von IL-5 und IL-13 nachgewiesen werden (248).

PBMCs von Kindern mit AD zeigten eine höhere proliferative Antwort und niedrige Produktion von IFN- $\gamma$  in Gegenwart vom Bakterium *S. aureus* und von *S. aureus*-Exotoxinen als PBMCs, die von gesunden nicht atopischen Kontrollen stammten. In Gegenwart von *S. aureus* war bei den PBMCs der Patienten eine höhere Produktion von IL-4 nachzuweisen (249).

Um einen potentiellen Einfluss von mikrobiellen Superantigenen auf das Überleben von Monozyten und Makrophagen nachzuweisen, inkubierten Bratton et al. periphere Blutmonozyten mit verschiedenen hohen Konzentrationen von TSST-1 und untersuchten die Apoptose der Zellen. In Abhängigkeit von der Superantigenkonzentration wurde die Apoptose inhibiert und es wurden prosurvivaltypische Zytokine wie GM-CSF, IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  produziert (250).

Mikrobielle Superantigene können in dendritischen Zellen und Makrophagen eine ausgeprägte IL-12-Produktion induzieren (251). IL-12 ist ein wichtiges Schlüsselzytokin für die Differenzierung und Maturation von Th-Zellen in Th1-Zellen. Bei einer chronischen Besiedlung der Haut mit Superantigen

sezernierendem *S. aureus* kann durch Penetrierung der Superantigene in die Haut die IL-12-Produktion in den dendritischen Zellen und Makrophagen getriggert werden. Damit kann der Switch von der Th2- in die Th1-Entwicklung gefördert werden und zur Ausbildung eines chronifizierten atopischen Ekzems beitragen.



**Abb. 3: Wichtige immunologische Veränderungen in atopischer Haut, ausgelöst durch den Einfluss von *S. aureus* Superantigene (modifiziert nach Leung).**  
CLA: cutaneous lymphoid antigen

## 2 Ziele und Fragestellung

Die beschriebenen Ergebnisse aus den Zellkulturmodellen und aus dem SCID-Maus-Modell für allergische Immunantworten zeigen, dass über den Einfluss von *S. aureus*-Exotoxinen wichtige immunologische Veränderungen in vitro ausgelöst werden können. Kausalpathogenetische Resultate mit entsprechend durchgeführten Experimentalansätzen sowie systematische klinische Untersuchungen zum Einfluss der *S. aureus*-Exotoxine bei Patienten mit AD stehen aus. Ergebnisse aus den In-vitro-Untersuchungen sind nicht immer mit denen von In-vivo-Untersuchungen in Einklang zu bringen. Dies ist der Anlass, den Effekt von *S. aureus*-Exotoxinen (Superantigenen) als Triggerfaktor bei der Exazerbation der AD zu untersuchen und folgende Forschungsfragen zu stellen:

- Werden über den Einfluss von *S. aureus*-Exotoxinen/Superantigenen T-zellvermittelte Hautreaktionen ausgelöst? Bei Patienten mit schwerer AD, bei denen *S. aureus*-Exotoxine aus den Abstrichen isoliert werden konnte, werden Hautbiopsien durchgeführt, um das T-Zellrezeptorrepertoire von hautinfiltrierenden T-Zellen zu charakterisieren. Durch Gegenüberstellung von histologisch ermitteltem TCR-Repertoire und nachgewiesenen *S. aureus*-Exotoxinen wird der Kausalzusammenhang von Kolonisierung mit *S. aureus* und chronischer allergischer Entzündung im Rahmen der AD nachgewiesen.
- Haben *S. aureus*-Exotoxine auf den klinischen Verlauf der AD einen wesentlichen Einfluss? Es wird die *S. aureus*-Besiedlung und die *S. aureus*-Exotoxinproduktion im Hinblick auf den klinischen Schweregrad, das Sensibilisierungsspektrum und das Gesamt-IgE der AD analysiert. Zusätzlich wird das Spektrum der *S. aureus*-Exotoxine ermittelt und im Hinblick auf den Schweregrad der AD ausgewertet.
- Stellt die Sensibilisierung gegen *S. aureus*-Exotoxine einen Risikofaktor für den klinischen Verlauf der AD dar? Die *S. aureus*-Exotoxine können wie ein klassisches Allergen wirken und eine spezifische IgE-Immunantwort induzieren. Es liegen aber keine wissenschaftlichen Erkenntnisse vor, unter welchen klinischen und infektiologischen Umständen die Bildung der spezifischen IgE-Immunantwort induziert wird. Bei Kindern ist zudem noch nicht

geprüft worden, ob sich eine Sensibilisierung gegen *S. aureus*-Exotoxine auf den Schweregrad der AD auswirkt, deswegen werden Kinder mit Sensibilisierung gegen SEA und SEB klinisch und immunologisch charakterisiert.

- Verstärkt eine immunsuppressive Therapie mit Cyclosporin A (CyA) bei *S. aureus*-kolonisierten Kindern mit AD das Risiko für eine systemische *S. aureus*-Infektion? Da bisher keine systematischen mikrobiologischen Untersuchungen vorliegen, wird deshalb der Einfluss einer systemischen Cyclosporin A-Therapie auf den Schweregrad der AD und die *S. aureus*-Besiedlung analysiert.

## **3 Patienten und Methoden**

### **3.1 Studienpopulation**

Zur Beantwortung der offenen Fragen wurden im Rahmen einer Querschnittsuntersuchung 74 Kinder aus einem risikoangereicherten Patientenkollektiv (stationärer Bereich) und 25 gesunde altersgleiche nicht-atopische Kinder als Kontrollen rekrutiert. Das risikoangereicherte Kollektiv bot sich für diese Untersuchung an, weil unterschiedlich schwere Manifestationen der AD vorlagen und eine Vielzahl von klinischen und immunologischen Parametern erhoben werden konnten, die eine Einordnung des Krankheitsbilds und die Korrelation mit bakterieller Besiedlung sowie *S. aureus*-Exotoxin-/Superantigenproduktion zuließen. Hierzu zählen u. a. die klinischen Parameter des natürlichen Krankheitsverlaufes wie Schweregrad der atopischen Dermatitis, Gesamt-IgE, Sensibilisierungsprofil und klinische Relevanz der Sensibilisierung. Der Schweregrad der Erkrankung wurde mittels SCORAD-Index festgelegt bei dem 0 bis 104 Punkte erreicht werden können. Nach internationaler Übereinstimmung wird ein SCORAD-Score von 1 bis 25 Punkten als leichte Dermatitis, ein SCORAD-Score von 26 bis 50 Punkten als mittelschwere Dermatitis und ein SCORAD-Score > 50 als schwere Dermatis bewertet (252).

### **3.2 Mikrobiologische Diagnostik**

Der Status der bakteriellen Besiedlung wurde in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Martin Mielke, Institut für Mikrobiologie, UKBF durchgeführt. Hierzu wurden mittels Rodacplatten (5,6 cm Durchmesser) standardisierte Abstriche an Ellenbeuge, Handgelenk und Nacken, sowie vorhanden an erosiven ekzematösen Hautarealen durchgeführt. Die Rodacplatten wurden dann unter Standardbedingungen (48 Stunden bei 32°C) inkubiert. Das *S. aureus*-Wachstum wurde mit Nachweis von typischen koagulase-positiven Kolonien identifiziert (253). Die Kolonisierung wurde quantifiziert über das Zählen der Anteile der „colony-forming units (cfu)“ auf einer Agarplatte und anschließender Umrechnung auf cm<sup>2</sup> Haut. *S. aureus*-Nasenträger wurden über den Nachweis von *S. aureus* aus der Nasenschleimhaut identifiziert. Abstriche der Nasenschleimhaut wurden



mittels steriler Watteträger abgenommen und über Anreicherungsbouillon und Mannitplatten (Inkubation 48 Stunden bei 32°C) aufgearbeitet.

Zum In-vitro-Toxinnachweis wurden *S. aureus*-Kulturüberstände im Latexagglutinations-test überprüft (TSST-RPLA<sup>®</sup> bzw. SET-RPLA-Test Kid<sup>®</sup>) Unipath, Hampshire, United Kingdom. Nach den Angaben des Herstellers wurden mit diesem Test die *S. aureus*-Exotoxine SEA, SEB, SEC, SED und TSST-1 bestimmt (236). Bei negativem Testausfall erfolgte noch eine zusätzliche Überprüfung des zellfreien *S. aureus*-Kulturüberstandes im Lymphozytenproliferationstest (254).

### **3.3 Zusammenhang zwischen lokaler T-Zell-Rekrutierung und *S. aureus*-Exotoxin-Produktion**

Um kausalpathogenetische Zusammenhänge im Hinblick auf lokale T-Zell-Rekrutierung in der Haut und *S. aureus*-Besiedlung/Superantigenproduktion bei chronisch ekzematöser Haut herzustellen, wurde ein umfangreicher Versuchsansatz mit einer Subpopulation von randomisierten Patienten mit schwerster chronischer AD konzipiert. Bei diesen Patienten wurde das *S. aureus*-Exotoxin identifiziert, isoliert und die individuellen Superantigene wurden in der mikrobiologischen Kultur angereichert. Die autologen PBMCs desselben Patienten wurden dann mit diesem individuellen Superantigen re-stimuliert. Dieser Testansatz hatte das Ziel, das individuelle TZR-V $\beta$ -Repertoire zu identifizieren, welches durch patienten-eigene Superantigene aktiviert und zur Expansion getrieben wird. Zeitgleich wurde eine Hautbiopsie aus dem chronisch entzündlichen Areal gewonnen (Frau Dr. Worm/Hautklinik) und immunhistologisch mit gegen TZR-V $\beta$ -Strukturen gerichteten Antikörpern gefärbt. Die Analyse des TZR-V $\beta$ -Repertoires wurde dann mit den vorher durchgeführten In-vitro-Untersuchungen korreliert. Diese Untersuchungen ließen einen Rückschluss auf die einwandernden T-Zellen in bezug auf die superantigene Reaktivität und Verteilung in die Haut der betroffenen Patienten zu.

### **3.4 Analysen des T-Zellrezeptor-V $\beta$ -Repertoires mittels Durchflusszytometrie**

Bei den Patienten wurden native PBMCs hinsichtlich ihrer V $\beta$ -Expression analysiert. In einem zweiten Versuchsansatz wurden Patienten-PBMCs mit antiCD3 mABs und eine zweite Probe mit autologem *S. aureus*-Kulturfiltrat für zwölf Tage restimuliert. Eine dritte Probe wurde nur mit Medium versetzt. Dieser Testansatz hatte das Ziel, das individuelle TZR-V $\beta$ -Repertoire zu identifizieren, welches durch patienteneigene Superantigene aktiviert und zur Expansion getrieben wird. Für diese Frequenzanalyse wurde das gesamte, derzeit kommerziell erhältliche anti-TZR-V $\beta$  eingesetzt. Folgende FITC-labeled mABS wurden benutzt: anti-V $\beta$ 2, anti-V $\beta$ 3, anti-V $\beta$ 3.1, anti-V $\beta$ 6.1, anti-V $\beta$ 6.7, anti-V $\beta$ 9, anti-V $\beta$ 11, anti-V $\beta$ 13.1, anti-V $\beta$ 14, anti-V $\beta$ 16, anti-V $\beta$ 17, anti-V $\beta$ 18, anti-V $\beta$ 20, anti-V $\beta$ 21.3 und anti-V $\beta$ 22 (Immunotech, Hamburg, Deutschland) und anti-V $\beta$ 5.1, anti-V $\beta$ 8, anti-V $\beta$ 12 (DPC, Bad Nauheim, Deutschland). Die Analyse des T-Zell-Rezeptor-V $\beta$ -Repertoires erfolgte mit der FACS-Analyse. Der Anteil der TCR-V $\beta$ -Expression wurde als prozentualer Anteil der CD3<sup>+</sup>-T-Zellen angegeben (255).

### **3.5 Hautbiopsie**

Es wurde bei den Patienten Haut von chronisch affektierten läsionalen Bereichen mittels 6 mm großer kutaner Stanzbiopsie am Oberschenkel entnommen. Das Biopat wurde sofort in flüssigem Nitrogen eingefroren und bei -80°C gelagert. Kryoserienschnitte von 5- $\mu$ m Dicke wurden immunhistologisch mit folgenden Antikörpern gefärbt: anti-CD3 (clone UCHT1 der Firma Dako, Glostrup, Dänemark) und anti-humane V $\beta$ 3.1, V $\beta$ 12.1, V $\beta$ 13.6, V $\beta$ 16, V $\beta$ 17, V $\beta$ 18 T-Zell Rezeptor (TCR) (Immunotech), und V $\beta$ 5.1 (DPC); alle wurden mit FITC versehen. Die mit FITC versehenen und gebundenen Antikörper wurden mittels APAAP-Methode visualisiert (256). Die immunhistologische Aufarbeitung wurde in Kooperation mit Herrn Dr. Anagnostopoulos, Institut für Pathologie, UKBF, durchgeführt.

Die immunhistologische Bewertung wurde durch den Pathologen „verblindet“ vorgenommen d.h., dass ihm die Identität der Biopsien im Hinblick auf die *S. aureus*-Enterotoxin-Bildung unbekannt war. Die absolute Anzahl der T-Zellen in der Dermis bezog sich auf die nachgewiesenen CD3-positiven Zellen. Der Anteil der TCR-V $\beta$ -Expression wurde als prozentualer Anteil der CD3+-T-Zellen angegeben. Die visualisierten TCR-V $\beta$ -Elemente wurden in dem jeweiligen korrespondierendem Areal der immunhistologisch gefärbten Serienschnitte gezählt.

### **3.6 Nachweis von Serum-Gesamt-IgE und spezifischen IgE-Antikörpern**

Das Serum-Gesamt-IgE und die spezifischen IgE-Antikörper gegen Inhalations- und Nahrungsmittelallergene wurden mittels Pharmacia<sup>®</sup> Test-Kids gemessen. Das Vorliegen von spezifischem IgE gegen SEA und SEB wurde per AlaStat System<sup>®</sup> (DPC Biermann) überprüft .

### **3.7 Cyclosporin A-Therapie und *S. aureus*-Besiedlung**

Möglicherweise ist aufgrund der immunsuppressiven Therapie mit CyA bei *S. aureus*-kolonisierten Kindern das Risiko für eine systemische *S. aureus*-Infektion erhöht. Im Rahmen einer offenen Studie wurde während der Therapiephase mit CyA als Sicherheitsparameter eine mikrobiologische Diagnostik durchgeführt und der Effekt von CyA auf die *S. aureus*-Besiedlung und auf den Schweregrad der AD analysiert. Das Patientenkollektiv bot sich für diese klinische und mikrobiologische Fragestellung an, da bei den erkrankten Kindern von einer besonders ausgeprägten immunologischen Störung mit schwerer Hautentzündung auszugehen war.

In der prospektiven Studie wurden 11 Kinder mit schwerer AD (SCORAD-Index > 50; objektiver SCORAD Score > 40 an zwei Basismessungen in einem Abstand von zwei Wochen), über 8 Wochen mit CyA behandelt und der Effekt von niedrig dosiertem CyA auf den Schweregrad der AD untersucht. Unter der CyA-Therapie sollte eine SCORAD-Reduktion von über 35% erreicht werden. Wenn

der Therapieerfolg nicht ausreichend war, wurde die Dosis in zweiten Woche auf 3,5 mg/kg/KG, ggfls. in der vierten auf 4,5 mg/kg/KG und in der sechsten auf 5 mg/kg/KG angehoben. Die topische Steroidtherapie (Betamethason 0,03% oder 0,05% zweimal täglich verabreicht) wurde während des Studienzeitraumes nicht geändert. Es lagen keine Unterschiede in der lokalen Anwendung zwischen der *S. aureus*-infizierten und der *S. aureus*-kolonisierten Gruppe vor.

Vor Studienbeginn mit CyA lag bei 6/11 Patienten eine *S. aureus*-Hautinfektion vor (200), die eine systemische antibiotische Therapie erforderte. Die Patienten wurden über einen Zeitraum von 4 Wochen mit folgenden Antibiotika behandelt: Cefuroxim Axetil (80 mg/kg/KG); Erythromycin (50 mg/kg/KG) und Amoxicillin-Clavulansäure (60 mg/kg/KG). Die nachgewiesenen *S. aureus*-Isolate waren im Antibiogramm im Hinblick auf die eingesetzten Antibiotika gut sensibel. Bei vier der Patienten war die antibiotische Therapie bei Eintritt in die CyA-Studie abgeschlossen. Bei zwei der *S. aureus*-infizierten Kinder war es wegen der Schwere der Erkrankung nicht möglich, das Antibiotikum abzusetzen. Bei Beginn der Studie lag bei 5/11 Patienten eine massive Kolonisierung der Haut mit *S. aureus* vor. Klinische und mikrobiologische Befunde wurden vor und nach CyA-Therapie erhoben. Die mikrobiologische Diagnostik ist ausführlich unter Punkt 3.2 dieses Abschnittes beschrieben worden.

### **3.8 Untersuchungen zur Lebensqualität der Eltern von Kindern mit schwerer AD**

Eltern von Kindern mit schwerer AD sind aufgrund von ausgeprägten und lang anhaltenden Erkrankungsphasen ihrer Kinder, die mit massivem Juckreiz, Schlaflosigkeit und Konzentrationsschwierigkeiten einhergehen können, häufig schwer belastet und in ihrem sozialen Leben eingeschränkt. Aus diesem Grund wurde bei den Eltern von erkrankten Kindern während der Therapiephase mit CyA die Entwicklung sozialer Faktoren anhand eines Lebensqualitäts-Fragebogens evaluiert.

Der Schweregrad der AD wurde mittels SCORAD-Score festgelegt und bezogen auf die zwei Untergruppen (objektiver und subjektiver SCORAD-Score) ausgewertet. Der objektive SCORAD-Score beinhaltet die Ausbreitung der allergischen Hautentzündung und die Intensität der Entzündung (Erythem, Ödem/Papeln, Krusten, Exkorationen, Lichenifizierung und Trockenheit der Haut). Mit dem subjektiven SCORAD-Score wurden Juckreiz und Schlafstörung der Kinder erfasst. Der subjektive SCORAD-Score wurde entweder von den Patienten selbst oder deren Müttern angegeben. Es konnten maximal 10 Punkte auf einer visuellen Analog-Skala für den höchsten Grad des Juckreizes oder den höchsten Grad der Schlafstörungen vergeben werden (252).

Bei Kindern mit AD werden überdurchschnittlich häufig Hautinfektionen mit *S. aureus* beobachtet, die klinisch durch Auftreten von Pusteln, Krusten, Eiter und erhöhtem Juckreiz der Haut charakterisiert sind. Die Hautinfektionen sind oft mit einer Exazerbation der AD verbunden, die Kinder müssen nicht selten mit einem *S. aureus*-wirksamen Antibiotikum systemisch behandelt werden (200). Diese infektiologische Komplikation kann für die Eltern belastend sein. Aus diesem Grund wurde geprüft, ob bei den AD-Patienten die an einer bakteriellen Hautinfektion litten, sich dieser Umstand in der Lebensqualität der betroffenen Mütter widerspiegelt

Für die Untersuchung zur Lebensqualität betroffener Eltern wurde der „Fragebogen zur Lebensqualität von Eltern neurodermitiskrankter Kinder“ eingesetzt, der von Ursula von Rügen und Mitarbeitern (257) im Rahmen einer Public

Health Studie entwickelt und validiert wurde. Im folgenden werden Beispiele für die fünf abgefragten Subgruppen des Elterfragebogens angegeben:

- Psychosomatisches Wohlbefinden: Ich fühle mich angespannt durch Schlafmangel,
- Auswirkungen auf das Sozialleben: Die Erkrankung meines Kindes belastet die Ehe/Partnerschaft,
- Zufriedenheit mit der medizinischen Versorgung: Durch unterschiedliche Ärztemeinungen fühle ich mich verunsichert,
- Emotionaler Umgang mit der Erkrankung: Es macht mich aggressiv, wenn mein Kind sich kratzt,
- Akzeptanz der Erkrankung: Ich versuche die Krankheit als Normalität zu betrachten.

### **3.9 Statistische Auswertung**

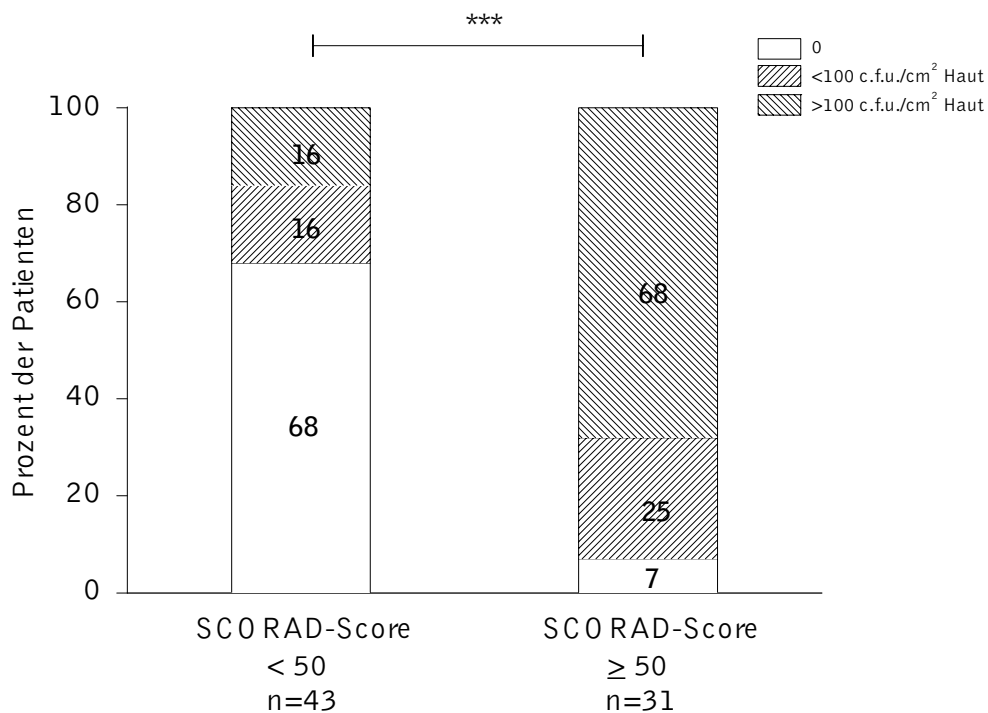
Statistische Analysen wurden mittels Chi-Quadrat Test, Pearson Test, dem Fisher's exact Test und dem Wilcoxon 2-sample Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Mit der linearen Regression wurden Zusammenhänge zwischen 1) SCORAD-Score und *S. aureus*-Besiedlung, 2) SCORAD-Score und *S. aureus*-Exotoxinbildung, 3) spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörpern und *S. aureus*-Besiedlung, 4) spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörpern und *S. aureus*-Hautinfektionen, 5) SCORAD-Score und Serum-Gesamt-IgE und 6) SCORAD-Score und spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörpern analysiert.

Die statistische Beratung erfolgte durch Herrn Prof. Dr. H. Skarabis, Abteilung für Statistik, Soziologisches Institut, FU Berlin.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Einfluss von *S. aureus*-Besiedlung und *S. aureus*-Exotoxine

In unserer durchgeführten Querschnittsstudie waren bei 81% der Kinder mit AD (60/74) *S. aureus*-Kolonisierungen der Haut nachgewiesen worden, während 25% der gesunden Kontrollkinder (5/25) eine isolierte nasale Besiedlung mit *S. aureus* aufwiesen (258). In der Studie korrelierte bei den Patienten der Schweregrad (SCORAD-Index) der AD mit der *S. aureus*-Besiedlungsdichte der Haut. Abbildung 4 stellt die Besiedlungsdichte mit *S. aureus* bei Kindern mit atopischer Dermatitis dar.

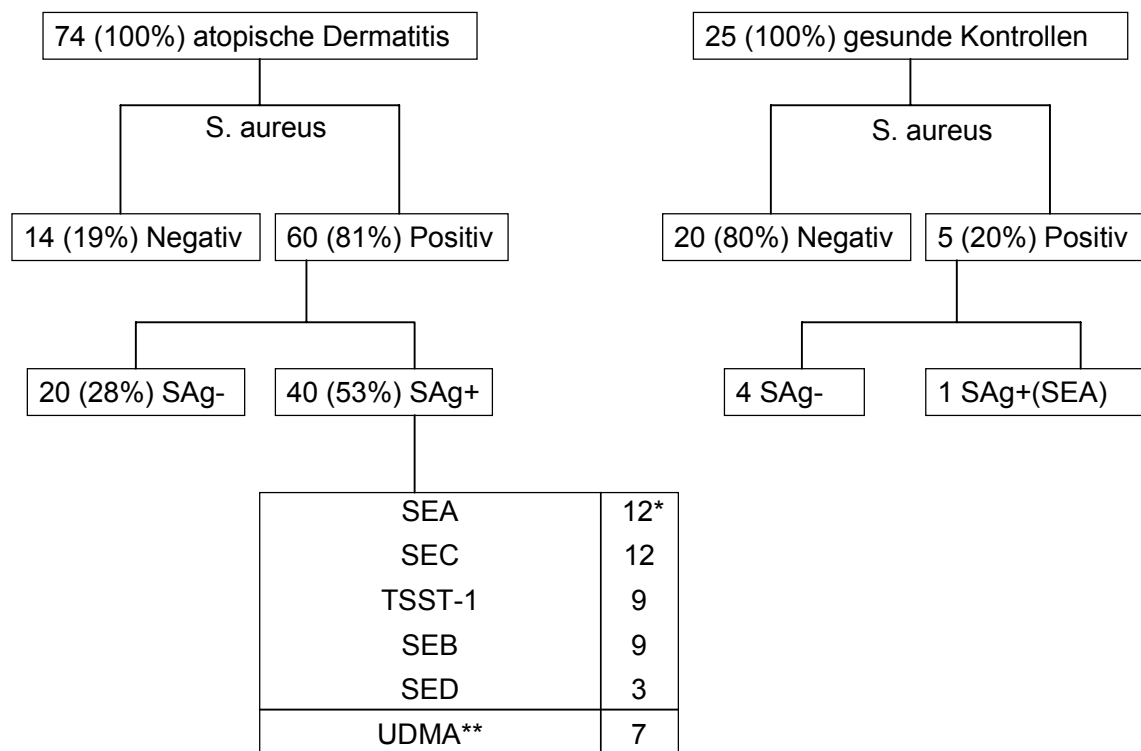


**Abb. 4: Grad der *S. aureus*-Kolonisierungen bei Patienten mit leichter und mittlerer Dermatitis (SCORAD-Score < 50 Punkte) gegenüber Patienten mit schwerer Dermatitis (SCORAD-Score ≥ 50 Punkte).**

(c.f.u = colony forming units, \*\*\* Chi-Quadrat Test,  $p < 0,001$ )

Es waren von 74 Kindern mit AD 60 (81%) mit *S. aureus* kolonisiert. *S. aureus*-Exotoxin-sezernierende Stämme wurden bei 40 Patienten (53%) von der Haut isoliert, während nur eine Kontrollperson eine Besiedlung mit diesen Stämmen aufwies ( $p < 0,001$ ). Am häufigsten wurden SEA- und SEC-sezernierende Stämme nachgewiesen, gefolgt von SEB, TSST-1 und SED. Neun Patienten

(23%) waren mit Stämmen besiedelt, die mehr als zwei verschiedene Toxine sezernierten. Bei negativem mikrobiologischem Testergebnis wurden die Überstände des *S. aureus*-Kulturfiltrates noch zusätzlich auf eine undefinierte mitogene Aktivität von *S. aureus* getestet, die bei 7 Patienten nachgewiesen werden konnte, jedoch bei keiner Kontrollperson (vgl. **Abb. 5A**).

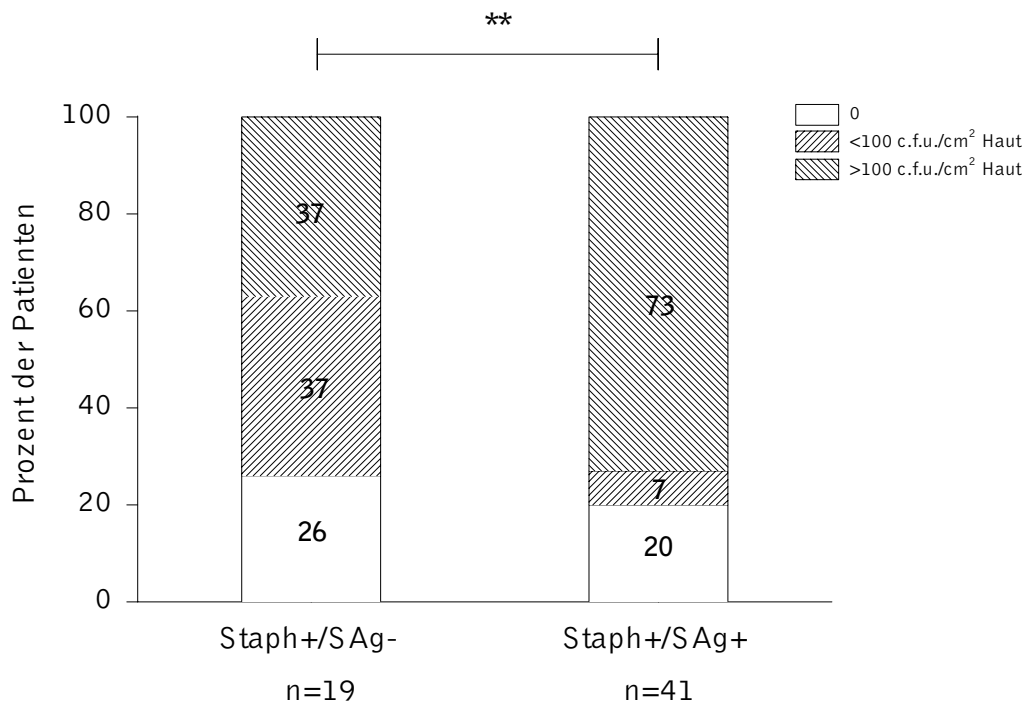


**Abb. 5A: Überblick über die Prävalenz von *S. aureus*-Besiedlung mit Exotoxin-sezernierenden Stämmen bei Kindern mit atopischer Dermatitis und gesunden nicht-atopischen Kontrollkindern.**

\* Anzahl der identifizierten *S. aureus*-Isolate, in denen Exotoxine nachgewiesen wurden; 9 Patienten zeigten mehr als 2 Toxine.

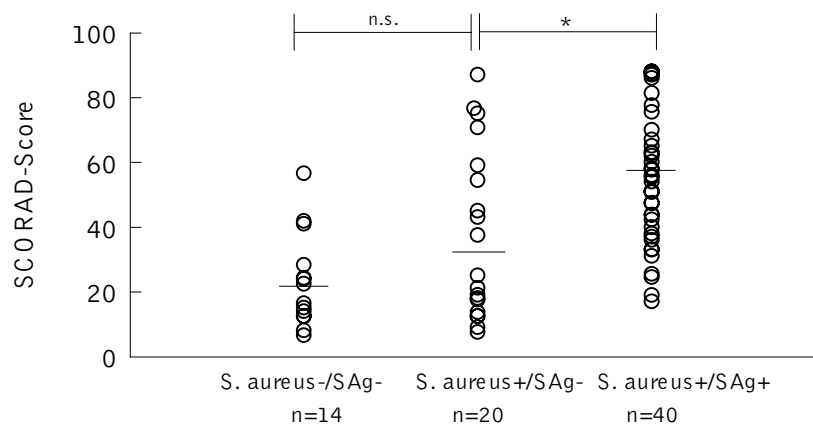
\*\* Patienten, die mit *S. aureus* besiedelt waren, bei denen eine undefinierte mitogene Aktivität (UDMA) beobachtet wurde.





**Abb. 5B: Grad der *S. aureus*-Kolonisierungen bei Patienten mit non-toxigenic- und für Patienten mit toxigenic *S. aureus*-Nachweis auf der ekzematösen Haut.**  
 (\*\* Chi-Quadrat Test,  $p < 0,01$ )

Eine schwere Dermatitis wurde häufiger bei den Kindern beobachtet, die mit Exotoxin-sezernierenden *S. aureus* (toxigenic) kolonisiert waren. In dieser Gruppe präsentierten sich 58% ( $n=23$ ) der Kinder mit einem SCORAD-Score  $> 50$  Punkten gegenüber 35% ( $n=7$ ) der Kinder mit *S. aureus*-Kolonisierung ohne Exotoxin-nachweis (non-toxigenic). In der Patientengruppe, die nicht mit *S. aureus* besiedelt war, wurde nur bei einem Patienten eine schwere Dermatitis diagnostiziert (Chi-Quadrat Test,  $p < 0,01$ ). Die Verlaufsform der Dermatitis im Vergleich zwischen den Gruppen mit *S. aureus*-Kolonisierung sowie der Gruppe mit Nachweis von Exotoxin-sezernierendem *S. aureus* auf der Haut ist in Abbildung 6 dargestellt. Zwischen den Gruppen gab es keinen unterschiedlichen Verbrauch bei der lokalen Steroidanwendung.

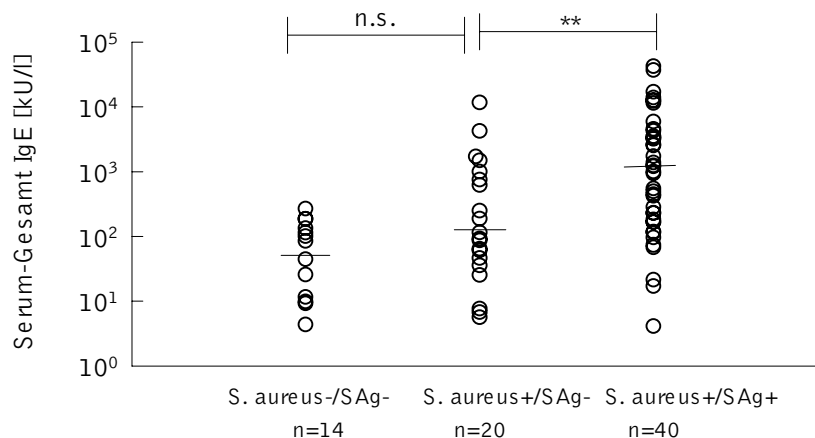


**Abb. 6: Darstellung des Schweregrades der atopischen Dermatitis bei drei Patientengruppen, der mittels SCORAD-Score festgelegt wurde. Die Linien präsentieren jeweils den medianen SCORAD-Score für Patienten ohne *S. aureus*-Kolonisierung, für Patienten mit non-toxischen *S. aureus* und für Patienten mit toxischen *S. aureus*-Kolonisierung.**

(\* Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,05$ )

Der Einfluß der *S. aureus*-Exotoxine auf den SCORAD-Score wurde mittels linearer Regression überprüft. Es wurde eine Varianzaufklärung von 30% ( $R^2 = 0,3$ ) für die Exotoxine, für die *S. aureus*-Kolonisierung eine Varianzaufklärung von 50% ( $R^2 = 0,5$ ) errechnet. Bemerkenswert ist, daß allein die drei Exotoxine SED, SEB und SEC zusammen eine Varianzaufklärung von 23% ( $R^2 = 0,23$ ) auf den SCORAD-Score haben.

Die höchsten Serum-IgE-Spiegel waren bei der Patientengruppe nachzuweisen, die mit Exotoxin-sezernierendem *S. aureus* kolonisiert war.



**Abb. 7: Darstellung des Serum-Gesamt-IgE bei drei Patientengruppen. Die Linien präsentieren jeweils den medianen Wert für Patienten ohne *S. aureus*-Nachweis auf der Haut, für Patienten mit non-toxischen *S. aureus* und für Patienten mit toxischen *S. aureus*-Kolonisierung.**  
 (\*\* Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,01$ )

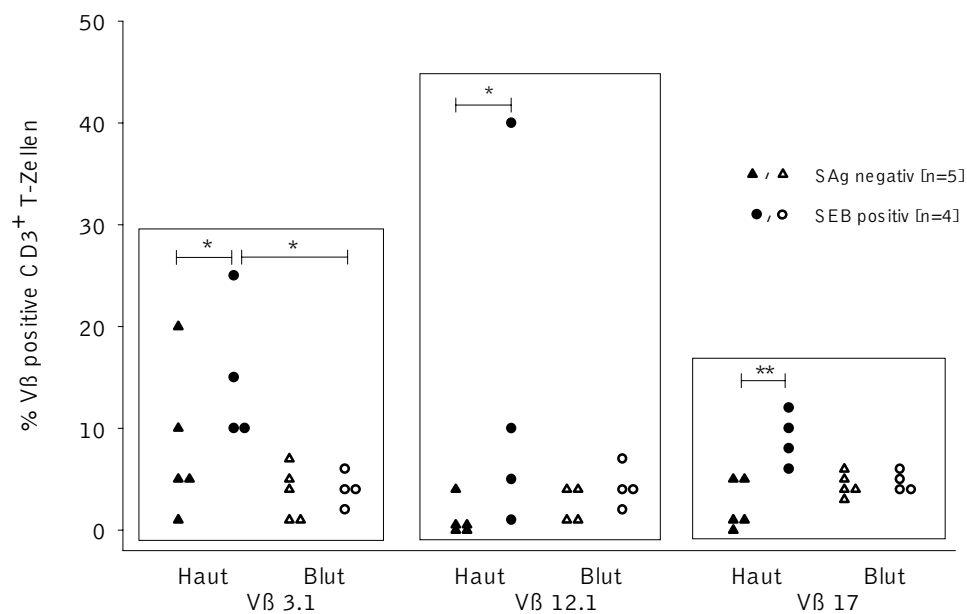
## 4.2 T-zellvermittelte Hautreaktionen auf *S. aureus*-Exotoxine

In einer Subgruppe von Patienten haben wir den Einfluß von *S. aureus*-Exotoxinen auf T-zellvermittelte Hautreaktionen untersucht. Bei nativen Patienten-PBMCs wurde das individuell ermittelte TZR-V $\beta$ -Repertoire bestimmt und dabei das gesamte derzeit kommerziell erhältliche anti-TZR-V $\beta$ -Panel eingesetzt. In der Abbildung sind die Frequenz der V $\beta$ -Expression für die Superantigen-reaktiven und nicht-reaktiven TZR-V $\beta$ -Elemente für V $\beta$ 3.1-, V $\beta$ 5.1-, V $\beta$ 12.1-, V $\beta$ 16-, V $\beta$ 17- und V $\beta$ 18-Elemente dargestellt.

Zeitgleich wurde eine Hautbiopsie aus dem chronisch entzündlichen Areal bei randomisierten Patienten gewonnen, bei denen definitionsgemäß eine schwere AD vorlag. Das Hautareal, das biopsiert werden sollte, wurde vor der Biopsie über einen Zeitraum von drei Wochen nicht mit lokalen Steroiden behandelt.

Das Biopstat wurde immunhistologisch mit gegen TZR-V $\beta$ -Strukturen gerichteten Antikörpern gefärbt (V $\beta$ 3.1, V $\beta$ 5.1, V $\beta$ 12.1, V $\beta$ 16, V $\beta$ 17, V $\beta$ 18). Die Analyse

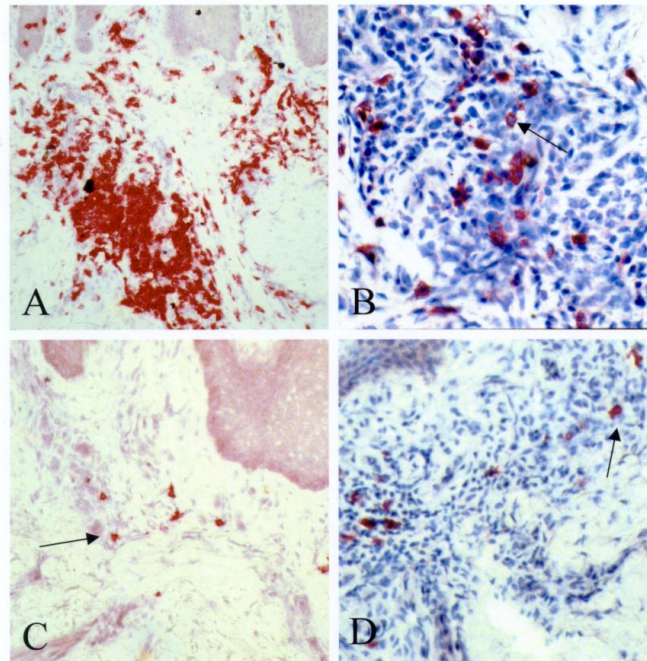
des TZR-V $\beta$ -Repertoires wurde dann in Beziehung gesetzt zu den vorher durchgeführten In-vitro-Untersuchungen. Diese Untersuchungen ließen einen Rückschluß auf die superantigene Reaktivität und Verteilung der in die Haut einwandernden T-Zellen zu. Insgesamt exprimierten zwischen 25% und 65% der intradermalen T-Zellen das zugehörige Superantigen-reaktive V $\beta$ -T-Zell-Repertoire gegenüber 5% bis 17% der T-Zellen im Blut. Im Gegensatz hierzu war weder in der Haut noch im Blut eine Akkumulation von nicht-superantigen-reaktiven T-Zell-Subpopulationen nachzuweisen. Als zusätzliche Kontrolle fand sich keine selektive Akkumulation von V $\beta$ -T-Zell-Subpopulationen bei Kindern, die mit non-toxischen *S. aureus* besiedelt waren.



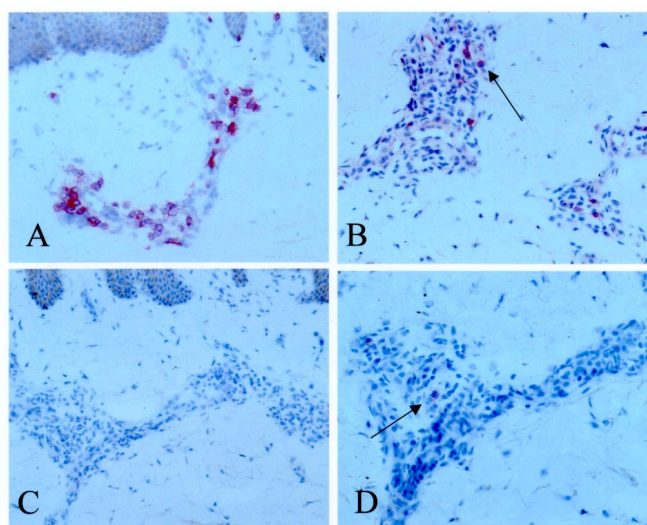
**Abb. 8: Gegenüberstellung der Frequenz des T-Zell-Rezeptor-V $\beta$ -Repertoires in den nativen CD3<sup>+</sup>-PBMCs zur Frequenz des T-Zell-Rezeptor-V $\beta$ -Repertoires der intradermalen T-Zellen von lässionaler Haut.**

(SCORAD Index > 50 Punkte über drei Jahre, Wilcoxon 2-sample Test, \* p<0,05, \*\* p<0,01)

Immunhistologische Ergebnisse von zwei typischen Patienten werden in **Abb. 9** und **Abb. 10** dargestellt. In chronisch affektierter Haut wird der totale Anteil der T-Zellen in (A), TCR-V $\beta$ 3.1+ (B), TCR-V $\beta$ 12.1+ (C), und TCR-V $\beta$ 17+ CD3+ T Zellen (D) präsentiert.



**Abb. 9: Kolonisierung mit SEB-sezernierendem *S. aureus* (> 100 cfu/cm<sup>2</sup> Haut) bei schwerer chronischer atopischer Dermatitis. (SCORAD-Score 87 Punkte)**

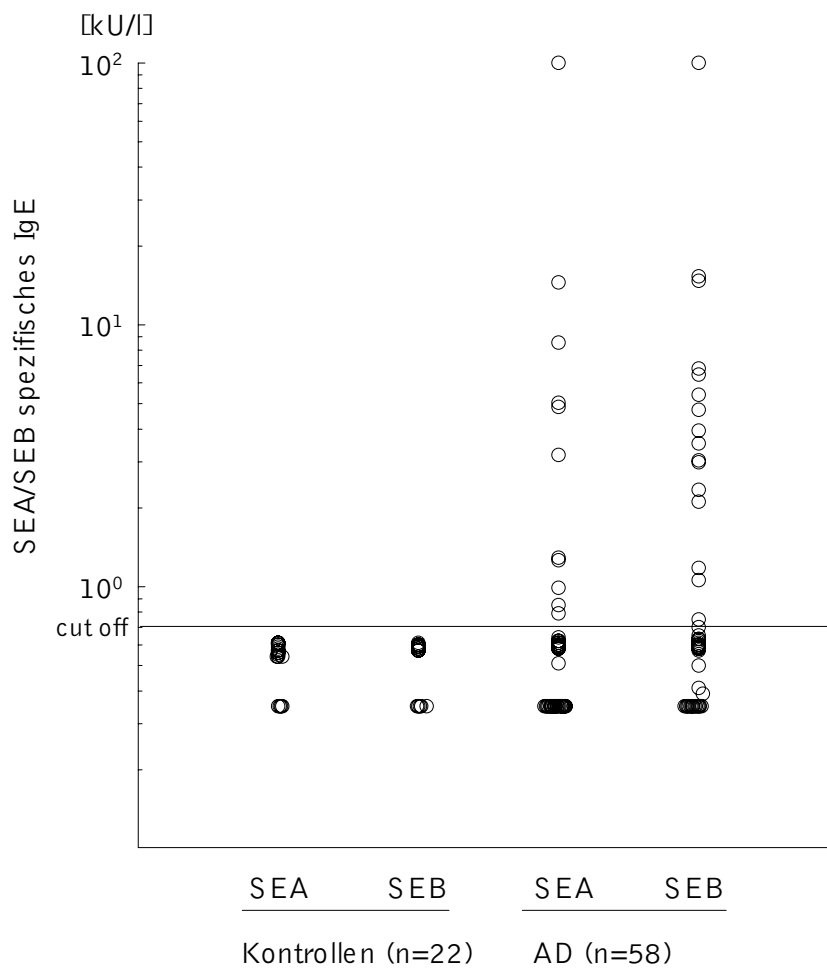


**Abb. 10: Kolonisierung mit non-toxigenic *S. aureus* (> 100 cfu/cm<sup>2</sup> Haut) bei schwerer chronischer atopischer Dermatitis. (SCORAD-Score 76 Punkte)**

Die Studienergebnisse belegen, dass bei Kindern mit AD und positivem *S. aureus*-Exotoxinnachweis auf ekzematöser Haut ein Großteil der dermal akkumulierten T-Zellen auf diese Exotoxine reagieren können. Die Daten deuten darauf, dass über eine kontinuierliche Exotoxin/Superantigen-Exposition die Akkumulation der T-Zellen (Einwanderung und/oder lokale Proliferation) getriggert wird.

#### **4.3 Spezifische Immunantwort gegen *S. aureus*-Exotoxine (SEA/SEB)**

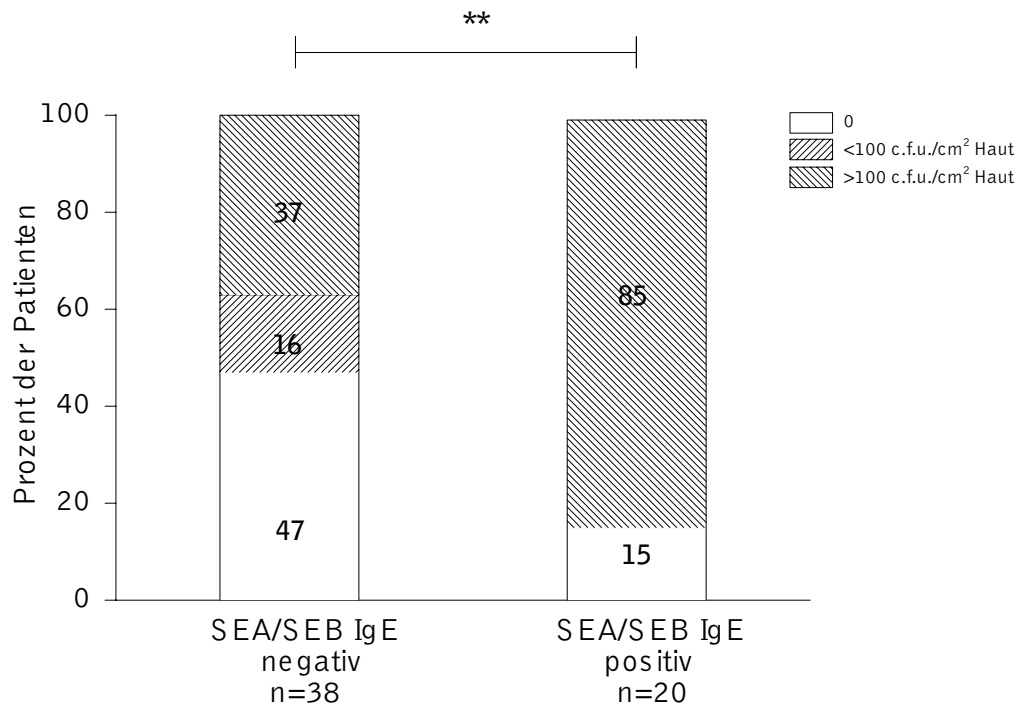
Im Rahmen der Querschnittsuntersuchung wurde bei 58 Kindern mit AD die Prävalenz und Rolle von Serum-IgE-Antikörpern gegen die *S. aureus*-Exotoxine SEA und SEB untersucht (259). In der Kontrollgruppe lag der mediane Wert vom spezifischen IgE für SEA bei 0,57 KU/L (range: 0,03 bis 0,6 KU/L) und für SEB bei 0,59 KU/L (range: 0,07 bis 0,61 KU/L). Bei 34% der Kinder mit AD (20/58) konnten wir spezifische IgE-Antikörper gegen SEA und/oder SEB nachweisen (45% zu SEB, 10% zu SEA und 45% zu SEA und SEB). 11 Kinder waren sensibilisiert gegen SEA und hatten einen medianen spezifischen IgE-Titer von 1,3 KU/L; 18 Kinder waren gegen SEB sensibilisiert und zeigten einen medianen spezifischen IgE-Titer von 3,0 KU/L. Als Sensibilisierung wurde definiert, wenn eine spezifische IgE Konzentration von über 0,7 KU/L vorlag (vgl. **Abb. 11**).



**Abb. 11: Messung der spezifischen IgE-Antikörper gegen *S. aureus*-Exotoxine SEA und SEB bei 22 gesunden nicht-atopischen Kontrollkindern und 58 Kindern mit AD.**

Alle gegen SEA und SEB sensibilisierten Kindern waren bei stationärer Aufnahme mit *S. aureus* kolonisiert gegenüber 71% (27/38) der nicht-sensibilisierten Kinder (Pearson Test,  $p < 0,01$ ) und 18% der gesunden nicht-atopischen Kontrollkinder. Der Einfluß der *S. aureus*-Kolonisierung auf den Nachweis von spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörpern wurde mittels linearer Regression überprüft. Es wurde eine Varianzaufklärung von 23% ( $R^2 = 0,23$ ;  $p < 0,05$ ) für die *S. aureus* Kolonisierung errechnet.

Der Grad der *S. aureus*-Besiedlung war in der sensibilisierten Gruppe deutlich höher (vgl. **Abb. 12**).



**Abb. 12: *S. aureus*-Kolonisierungsdichte auf ekzematöser läsionaler Haut bei SEA/SEB-sensibilisierten und nicht-sensibilisierten Kindern.** Die Balken präsentieren den medianen Besiedlungsgrad der untersuchten Kinder bezogen auf cm² getesteter Haut.

(c.f.u./cm² = colony forming units, \*\* Pearson Test,  $p < 0,01$ )

Die Prävalenz von SEB-sezernierendem *S. aureus* auf der Haut war in der sensibilisierten Gruppe (5/25) gegenüber den nicht-sensibilisierten Kindern (0/38; Fisher's exact Test,  $p < 0,01$ ) höher. Eine auffällig hohe Prävalenz von *S. aureus*-Hautinfektionen wurde in der sensibilisierten Gruppe nachgewiesen, die eine systemische staphylokokkenwirksame antibiotische Therapie bei den betroffenen Kindern erforderte (vgl. **Tabelle 7**). Bei den Kindern mit invasiver *S. aureus*-Infektion lag zeitgleich auch eine *S. aureus*-Hautinfektion vor.



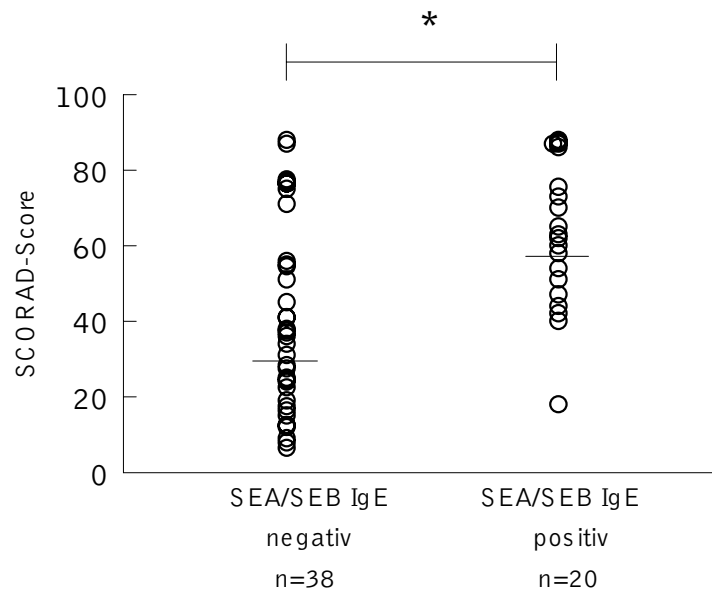
**Tabelle 7: Prävalenz von S. aureus-Hautinfektionen und invasiven S. aureus-Infektionen.**

<b>S. aureus Komplikationen</b>	<b>SEA/SEB IgE negativ (n=38)</b>	<b>SEA/SEB IgE positiv (n=20)</b>
<b>invasive Infektion<sup>1</sup></b>		
Hautabzesse, n (%)	0	6 (30)
Osteomyelitis, n (%)	1 (3)	0
Septikämie, n (%)	0	2 (10)
<b>Hautinfektion<sup>2</sup>, n (%)</b>	<b>8 (21)</b>	<b>16 (80)</b>

<sup>1+2</sup> Pearson Test, p-value < 0,001

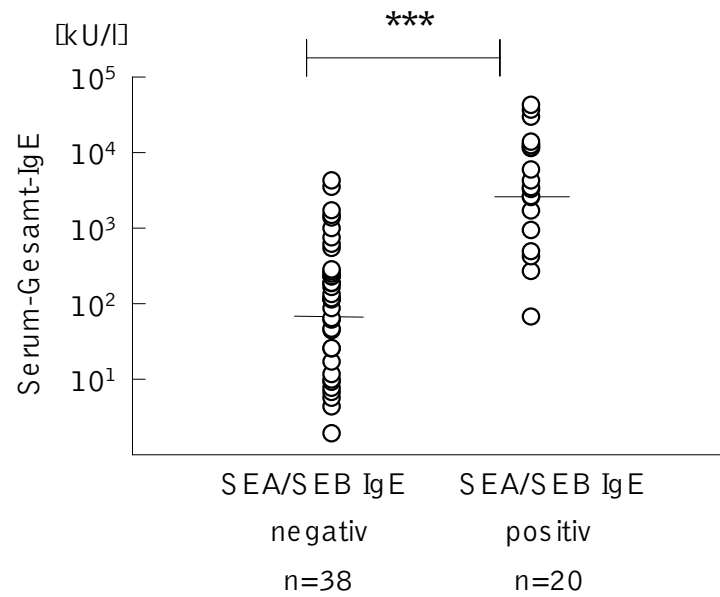
Der Einfluß der S. aureus-Hautinfektionen auf den Nachweis von spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörpern wurde mittels linearer Regression errechnet und eine Varianzaufklärung von 37% ( $R^2 = 0,37$ ,  $p < 0,0001$ ) für die S. aureus-Hautinfektionen nachgewiesen.

Ziel der Studie war zu prüfen, ob eine Sensibilisierung gegen S. aureus-Exotoxine mit einer höheren Krankheitsaktivität der AD verbunden ist. Die SEA/SEB-sensibilisierte Gruppe zeigte einen deutlich höheren Schweregrad (vgl. **Abb. 13**).

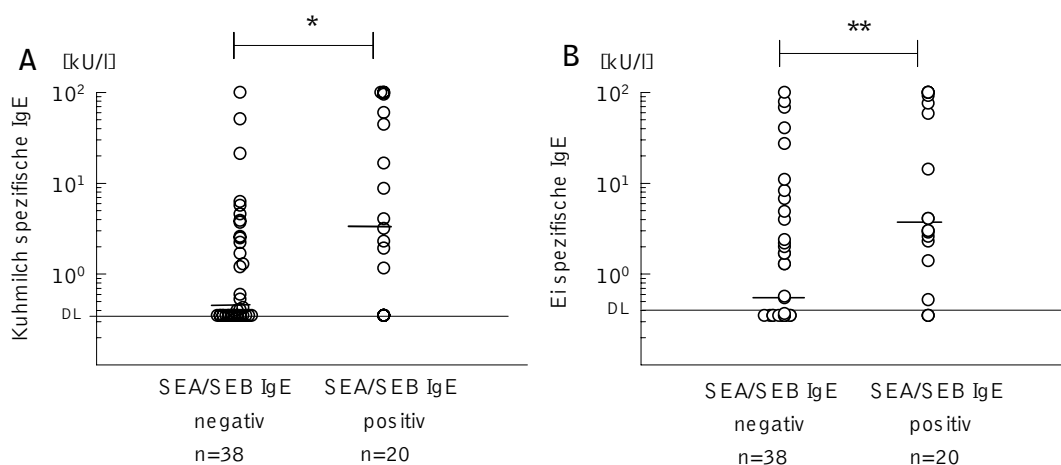


**Abb. 13: Evaluierung des Schweregrades der atopischen Dermatitis mittels SCORAD-Score.** Die Linien präsentieren jeweils den medianen Wert für die einzelnen Gruppen.  
(\* Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,05$ )

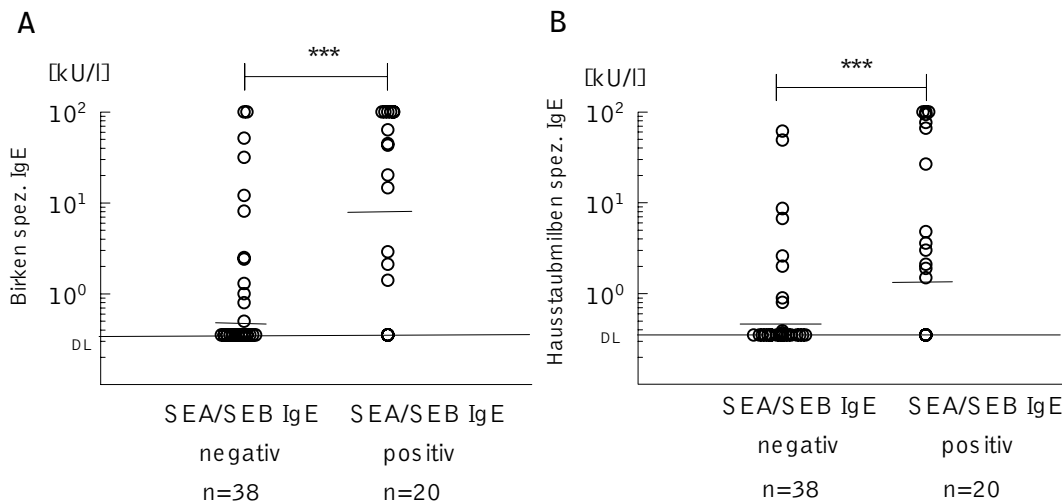
Um die Kinder besser zu charakterisieren, wurde die Höhe des Serum-Gesamt-IgE und des spezifischen IgE gegen Nahrungsmittel- und Inhalationsallergene bestimmt. Das Ergebnis war eine deutliche Erhöhung des Gesamt-IgE (vgl. **Abb. 14**) und des spezifischen IgE gegen Nahrungsmittel (vgl. **Abb. 15**) und Inhalationsallergene (vgl. **Abb. 16**) in der SEA/SEB-sensibilisierten Gruppe.



**Abb. 14: Gegenüberstellung des Serum-Gesamt-IgE der nicht-sensibilisierten zur SEA/SEB-sensibilisierten Gruppe.** Die Linien präsentieren jeweils den medianen Wert für die einzelnen Gruppen.  
(\*\*\* Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,001$ )



**Abb. 15: Gegenüberstellung des spezifischen IgE gegen Nahrungsmittelallergene der nicht-sensibilisierten zur SEA/SEB-sensibilisierten Gruppe.** Die Linien präsentieren jeweils den medianen Wert für die einzelnen Gruppen.  
(Wilcoxon 2-sample Test, \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ )



**Abb. 16: Gegenüberstellung des spezifischen IgE gegen Inhalationsallergene der nicht-sensibilisierten zur SEA/SEB-sensibilisierten Gruppe.** Die Linien präsentieren jeweils den medianen Wert für die einzelnen Gruppen.  
 (\*\*\*) Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,001$ )

Mittels linearer Regression konnten wir nachweisen, dass der Einfluß der spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörper auf den Schweregrad der Dermatitis deutlich höher war als das Serum-Gesamt-IgE. Es wurde eine Varianzaufklärung von 17% ( $R^2 = 0,17$ ,  $p < 0,001$ ) für die spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörper errechnet und für das Serum-Gesamt-IgE eine Varianzaufklärung von 9% ( $R^2 = 0,09$ ,  $p < 0,05$ ). In diesem Patientenkollektiv konnten wir mit der linearen Regression für die Nahrungsmittel- und Inhalationsallergene keinen signifikanten Zusammenhang nachweisen.

#### **4.4 Effekt von Cyclosporin A-Therapie auf die S. aureus Besiedlung**

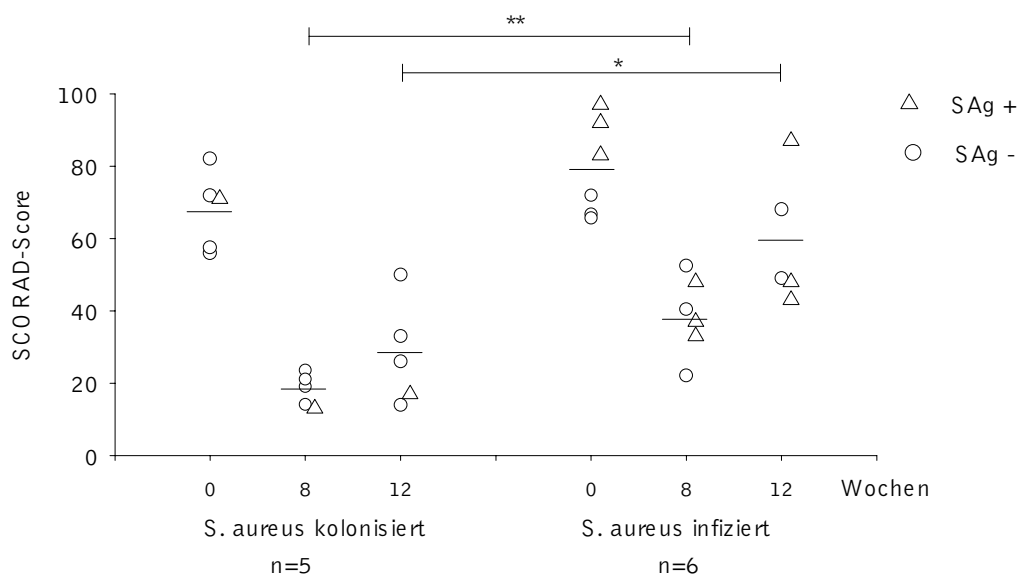
Die gute Wirksamkeit von oralem CyA bei der Behandlung des atopischen Ekzems ist bei erwachsenen AD-Patienten seit mehreren Jahren bekannt (160). Auch bei Kindern liegen einige Studien vor, die zeigen, dass CyA das schwere Krankheitsbild positiv beeinflusst, wobei die Therapieeffekte mit einer Anfangsdosierung von 5 mg/kg/KG erreicht wurden (161, 162).

Nebenwirkungen von CyA sind häufig dosisabhängig, so dass wir in der vorliegenden Studie den therapeutischen Effekt von niedrigdosiertem CyA bei schwerer AD untersuchten. Wir konnten zeigen, dass bei acht Patienten eine niedrige Dosis mit 2,5 mg/kg/KG oder 3,5 mg/kg/KG CyA ausreichten, um adäquat das atopische Ekzem therapeutisch zu beeinflussen (SCORAD-Reduktion > 35%). Drei Kinder benötigten eine Dosis von 5 mg/kg/KG; darunter befand sich ein Patient, der nicht ausreichend auf die CyA-Therapie (SCORAD-Reduktion < 35%, non-responder) ansprach. Unter der CyA Therapie, die über einen Zeitraum von 8 Wochen erfolgte, war bei allen Patienten eine deutliche Reduktion der Hautentzündung nachzuweisen (mean SCORAD-Index 74 versus 29,  $p < 0,001$ ). Erste therapeutische Ergebnisse zeigten sich nach 14 Tagen Therapie; die besten Erfolge waren nach 8 Wochen Therapie zu beobachten. Die klinischen Verlaufsdaten sind in den Abbildungen 19 bis 21 dargestellt.

Im Rahmen von Sicherheitsparametern haben wir den Einfluss von CyA auf die S. aureus Besiedlung und auf den Schweregrad der AD untersucht. Vor Studienbeginn lagen bei 6/11 der AD-Patienten oberflächliche Hautinfektionen mit S. aureus vor, die antibiotisch behandelt wurden. Bei zwei Kindern wurde wegen der Schwere der Erkrankung die antibiotische Therapie während der Behandlung mit CyA weitergeführt. 5/11 Kindern zeigten eine massive S. aureus-Besiedlung bei Beginn der Behandlung mit CyA.

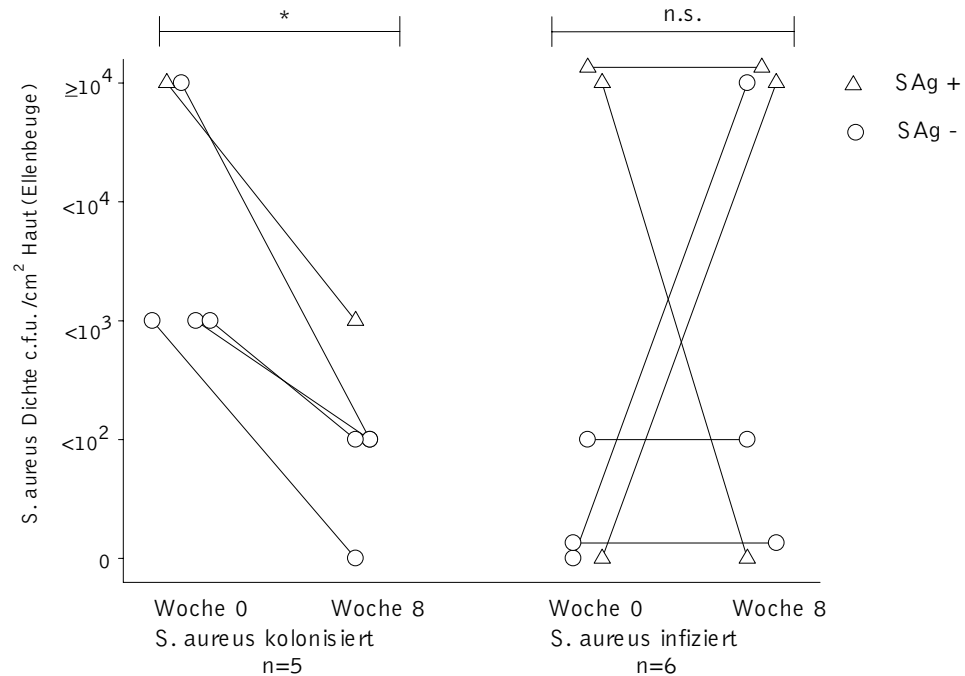
Wegen möglicher Einflüsse der antibiotischen Therapie auf die S. aureus-Besiedlung der Haut wurden die Patienten in zwei Gruppen stratifiziert: a) S. aureus-kolonisierte Patienten (keine antibiotische Therapie) versus b) S. aureus-infizierte Patienten (antibiotische Therapie). Die CyA-Dosierung

unterschied sich nicht zwischen der *S. aureus*-infizierten Gruppe (mean CyA 3,5 mg/tgl./kg/KG) und der *S. aureus*-kolonisierten Gruppe (mean CyA 3,4 mg/tgl./kg/KG). Der Verlauf des Schweregrades der AD für die beiden Patientengruppen ist in **Abb. 17** dargestellt. Der Ausgangs-SCORAD-Index unterschied sich nicht zwischen der *S. aureus*-infizierten Gruppe und der *S. aureus*-kolonisierten Gruppe. Der Schweregrad war nach der achtwöchigen CyA-Therapie in der *S. aureus*-infizierten Gruppe noch deutlich höher als in der *S. aureus*-kolonisierten Gruppe. (Woche 8: mittlerer SCORAD-Score 39 versus 18; Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,001$ ). Diese Differenz war auch noch vier Wochen nach Beendigung der CyA-Therapie nachzuweisen (Woche 12: mittlerer SCORAD-Score 58 versus 28; Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,05$ ).



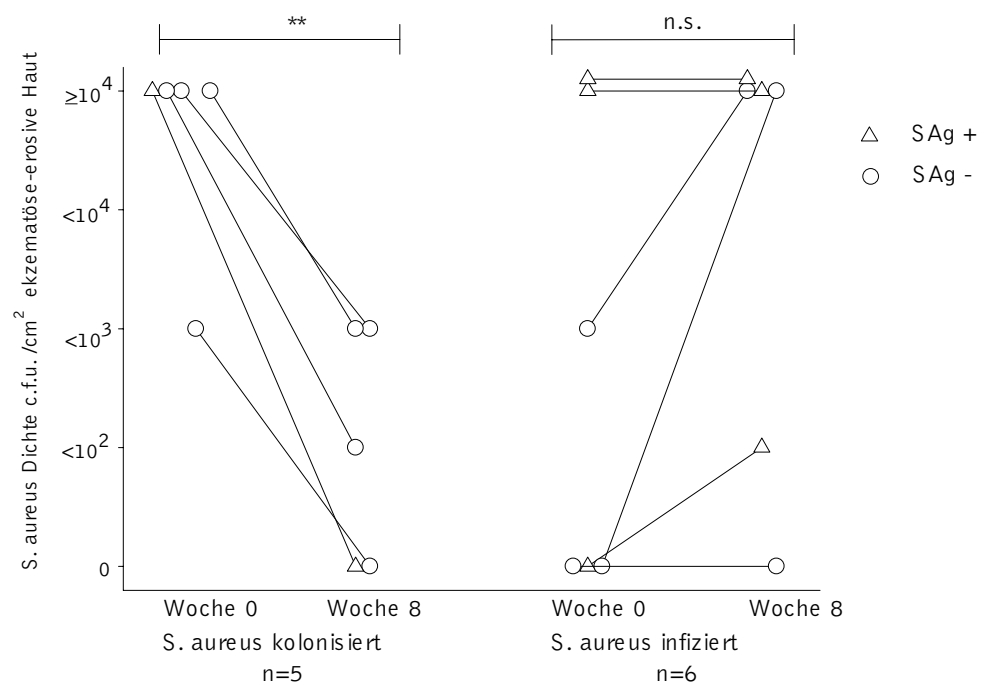
**Abb. 17:** Darstellung des Schweregrades der atopischen Dermatitis bei zwei Patientengruppen, der mittels SCORAD-Score festgelegt wurde. Diese Patienten wurden über einen Zeitraum von acht Wochen mit Cyclosporin-A therapiert (Woche 0 bis 8). Es erfolgte dann eine vierwöchige Nachbeobachtung ohne Therapie mit Cyclosporin A (Woche 8 bis 12). Die Linien präsentieren jeweils den mittleren SCORAD-Score für Patienten mit *S. aureus*-Kolonisation (keine antibiotische Therapie) und für Patienten mit *S. aureus* Hautinfektion (antibiotische Therapie). (Wilcoxon 2-sample Test, \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ )

Die Entwicklung der *S. aureus*-Besiedlung unter der CyA-Therapie ist für die beiden Gruppen in den Abbildungen **Abb. 18A** und **Abb. 18B** dargestellt.



**Abb. 18A: Grad der *S. aureus*-Kolonisierung für die Ellenbeuge bei Patienten ohne antibiotische Therapie und bei Patienten mit antibiotischer Therapie unter der achtwöchigen Cyclosporin-A-Therapie (Woche 0: vor CyA-, Woche 8: nach CyA-Therapie).**

(c.f.u = colony forming units, \* Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,05$ )



**Abb. 18B: Grad der S. aureus-Kolonisierung für ekzematöse-erosive Haut bei Patienten ohne antibiotische Therapie und bei Patienten mit antibiotischer Therapie unter der achtwöchigen Cyclosporin-A-Therapie (Woche 0: vor CyA-, Woche 8: nach CyA-Therapie).**

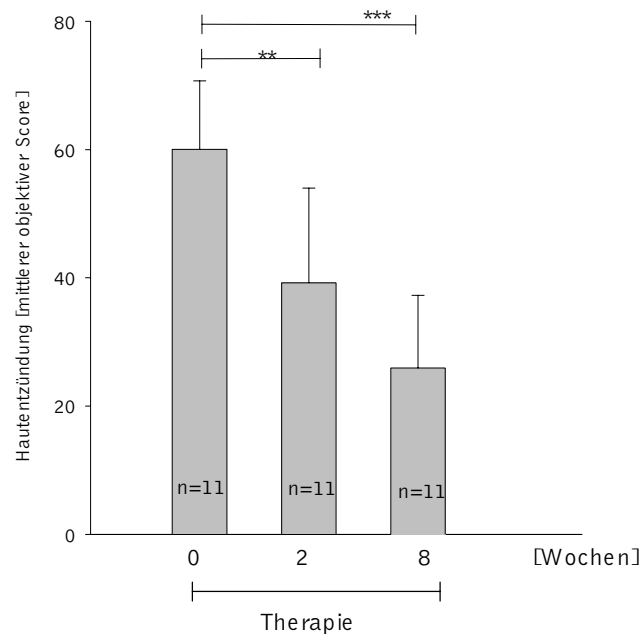
(c.f.u = colony forming units, \*\* Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,01$ )



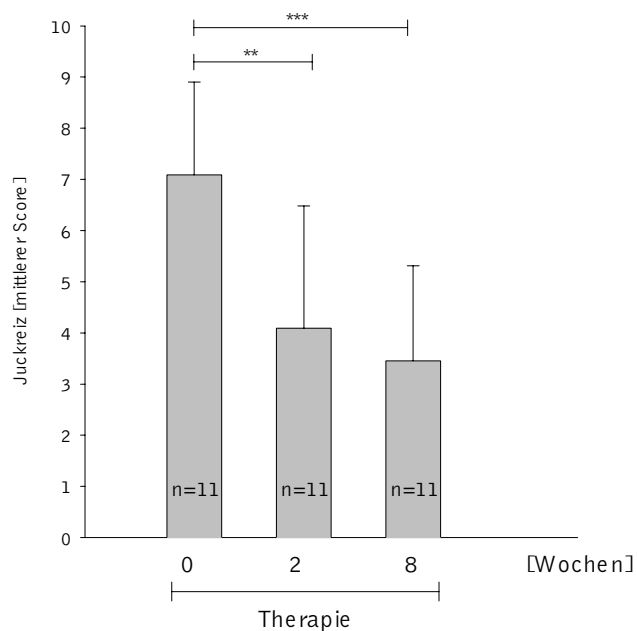
#### 4.5 Lebensqualität von Müttern mit Kindern schwerer AD

Ziel der Untersuchung war es zu prüfen, ob eine Beeinflussung des Schweregrades der kindlichen AD durch Behandlung mit CyA sich auch auf die Lebensqualität der Mütter auswirkt. Es konnte die Lebensqualität bei zehn Müttern direkt vor Beginn der Behandlung ihrer Kinder mit CyA, nach den ersten zwei Wochen Therapie und nach einem achtwöchigen Therapieintervall, gemessen werden.

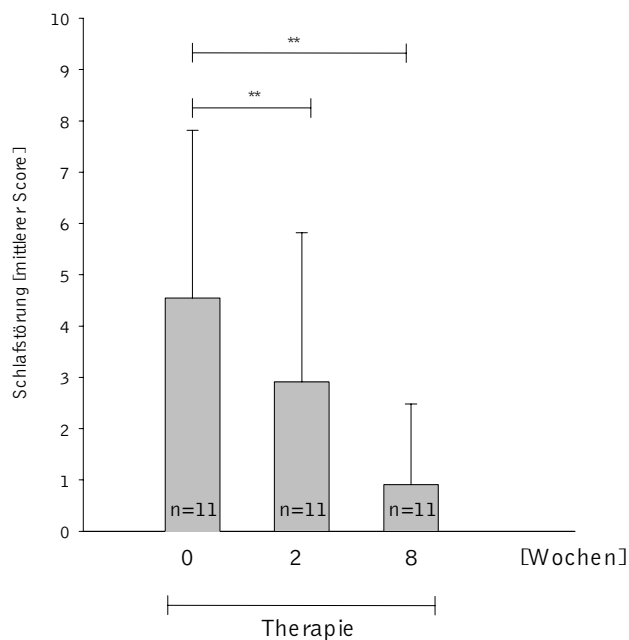
Der Verlauf der Erkrankung im Studienzeitraum unter der CyA-Therapie wird in den nachfolgenden Abbildungen dargestellt. **Abb. 19** zeigt die Entwicklung des objektiven SCORAD-Scores, **Abb. 20** die des Juckreizes und **Abb. 21** die der Schlafstörungen unter der CyA-Therapie. Nach zwei Wochen CyA-Therapie waren schon deutliche therapeutische Effekte auf das Ausmass der allergischen Hautentzündung (objektiver SCORAD-Score), den Juckreiz und die Schlafstörungen (subjektiver SCORAD-Score) nachzuweisen; nach achtwöchiger Therapie ließen sich die besten klinischen Ergebnisse beobachten. Nach dem Absetzen von CyA kam es wieder zu einer Verstärkung der klinischen Symptomatik, wobei das Ausgangsniveau jedoch nicht erreicht wurde.



**Abb. 19: Entwicklung des objektiven SCORAD-Scores bei Kindern mit schwerem atopischem Ekzem (SCORAD-Score > 50 Punkte) unter der Cyclosporin-A-Therapie, bezogen auf den Therapiezeitraum.**  
(Wilcoxon 2-sample Test, \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ )



**Abb. 20: Entwicklung des Juckreizes bei Kindern mit schwerem atopischem Ekzem (SCORAD-Score > 50 Punkte) unter der Cyclosporin-A-Therapie, bezogen auf den Therapiezeitraum.**  
(Wilcoxon 2-sample Test, \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ )



**Abb. 21: Entwicklung der Schlafstörung bei Kindern mit schwerem atopischem Ekzem (SCORAD-Score > 50 Punkte) unter der Cyclosporin-A-Therapie, bezogen auf den Therapiezeitraum.**

(\*\* Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,01$ )

Die Entwicklung der Lebensqualität bei Müttern mit Kindern, die an einer schweren AD erkrankt sind, ist während der kindlichen Therapie mit CyA über den Behandlungszeitraum dargestellt. Es werden die mittleren Scores der mütterlichen Lebensqualität für die fünf Subgruppen in **Tabelle 8** präsentiert. Wurde der subjektive und der objektive SCORAD-Score mit den fünf evaluierten Subgruppen korreliert, so war der subjektive SCORAD-Score „Schlafstörung“ negativ mit der Lebensqualitäts-Skala „Psychosomatisches Wohlbefinden“ mit -0,71 ( $p < 0,05$ ) in der zweiten und mit -0,81 ( $p < 0,01$ ) in der achten Woche korreliert.

**Tabelle 8: Entwicklung der mütterlichen Lebensqualität in Assoziation zur Behandlung ihrer erkrankten Kinder mit Cyclosporin A**

Lebensqualität	A: Woche 0 mean (SD)	B: Woche 2 mean (SD)	C: Woche 8 mean (SD)
Psychosomatisches Wohlbefinden	3,15 (1,00) <sup>1</sup>	3,41 (0,95) <sup>1</sup>	3,49 (1,04)
Auswirkung auf das Sozialleben	3,13 (1,36)	3,31(1,24)	3,40 (1,25)
Zufriedenheit mit der medizinischen Versorgung	3,94 (0,85)	4,01 (0,87)	3,92 (1,08)
Emotionaler Umgang mit der Erkrankung	3,13 (0,58) <sup>2,3</sup>	3,56 (0,69) <sup>2</sup>	3,58 (0,81) <sup>3</sup>
Akzeptanz der Erkrankung	3,70 (0,67)	3,65 (0,75)	3,65 (0,63)

Wilcoxon 2-sample test, <sup>1</sup> A vs. B, p<0,05, <sup>2</sup> A vs. B, p<0,05, <sup>3</sup> A vs. C, p<0,05

Eine Therapie mit CyA, die eine deutliche Reduktion des Schweregrades der Erkrankung mit daraus resultierendem Rückgang des Juckreizes und der Schlafstörungen der schwer kranken Kinder verursachte, hat modifizierende Effekte auf die Lebensqualität der betroffenen Mütter. Bei den erkrankten Kinder waren nach zwei Wochen Therapie mit CyA die ersten positiven therapeutischen Wirkungen zu beobachten. Parallel dazu waren bei den Müttern positive Effekte in den Bereichen „psychosomatisches Wohlbefinden“ und im Bereich „des emotionalen Umgangs mit der Erkrankung der Kinder“ nachzuweisen. Im Bereich der Subgruppe „psychosomatisches Wohlbefinden“ waren diese Einflüsse über den gesamten Studienzeitraum stabil. In der achten Woche, kurz vor Beendigung der kindlichen CyA-Therapie, zeigten sich in der Subgruppe „emotionaler Umgang mit der Erkrankung“ bei einigen Müttern noch geringgradige Änderungen. Die Beobachtung, dass die kindlichen Schlafstörungen negativ mit dem „psychosomatischen Wohlbefinden“ der Mütter in der zweiten und auch noch in der achten Woche korrelierten, geben Anhalt für die ausgeprägte familiäre Belastungssituation durch das an schwerer AD erkrankte Kind.

Wie in **Abb. 17** dargestellt ist, war der therapeutische Effekt von CyA in der *S. aureus*-infizierten Gruppe viel geringer als in der Gruppe, die mit *S. aureus* kolonisiert war. Die Mütter dieser Gruppe waren in der Subgruppe „Auswirkungen auf das Sozialleben“ deutlich mehr beeinträchtigt als die Mütter der *S. aureus*-kolonisierten Gruppe (mean Score 4,5 versus 2,7; Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,05$ ). In der zweiten Woche war auch die „Akzeptanz der Erkrankung“ bei den Müttern in der *S. aureus*-infizierten Gruppe etwas niedriger (mean Score 3,5 versus 3,3; Wilcoxon 2-sample Test,  $p < 0,05$ ).

## 5 Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Querschnittsuntersuchung bestätigen, dass der überwiegende Anteil von Kindern mit AD mit *S. aureus* kolonisiert ist. In der Studie waren 81% der Kinder mit *S. aureus* besiedelt und die Daten sind vergleichbar mit anderen mikrobiologischen Studien die bei Kindern und Erwachsenen durchgeführt wurden. In diesen mikrobiologischen Studien, waren zwischen 63% und 90% der Patienten mit *S. aureus* kolonisiert, in den gesunden Kontrollgruppen variierte die *S. aureus*-Besiedlung der Haut zwischen 0% und 3% und die der Nasenschleimhaut zwischen 11% und 30% (194, 195, 198, 200, 231-233, 235, 236). In unserer Studie waren 25% der gesunden Kontrollkinder mit *S. aureus* nur auf der Nasenschleimhaut besiedelt. *S. aureus*-Exotoxin sezernierende Stämme waren bei 53% der Patienten von der ekzematösen Haut zu isolieren, während nur bei einer Kontrollperson SEA nachzuweisen war. In anderen mikrobiologischen Studien lagen die Prävalenzen für Nachweis von toxischen *S. aureus* bei 37% bis 70% (231-233, 235, 236).

Aus mehreren Studien ist bekannt, dass eine Exposition mit *S. aureus*-Exotoxinen eine AD auslösen kann. Michie und Mitarbeiter haben 68 Überlebende eines Toxin-Schock-Syndroms hinsichtlich dieser Fragestellung untersucht. Bei 14 Patienten (20%) trat zwei Wochen nach dem Überstehen der Erkrankung ein atopisches Ekzem auf, ohne dass bei den Patienten vorher eine atopische Belastung oder eine AD bekannt gewesen wäre. Die Autoren vermuten, dass über den Einfluß der *S. aureus*-Exotoxine bei den betroffenen Patienten das atopische Ekzem ausgelöst wurde (234). Vergleichbare Beobachtungen wurden auch bei Patienten mit einem Kawasaki-Syndrom gemacht, bei denen im Zusammenhang mit der Erkrankung eine erhöhte Frequenz von neu aufgetretenem atopischem Ekzem diagnostiziert wurde (260).

Im Vergleich zu den Patienten mit non-toxischen *S. aureus*, zeigten die Patienten aus unserer Studie die höchste Krankheitsaktivität und die höchsten Serum-IgE-Titer, wenn bei ihnen *S. aureus* mit Exotoxin-Sekretion von der ekzematösen Haut isoliert wurde. Mittels linearer Regression berechneten wir eine Varianzaufklärung von 30% für die Exotoxine auf dem SCORAD-Score und eine

Varianzaufklärung von 50% für die *S. aureus*-Besiedlung. Die *S. aureus* Exotoxine haben somit einen erheblichen Einfluss auf den Schweregrad der AD.

In einer Subgruppe von Patienten, die mit Exotoxin-sezernierendem *S. aureus*-besiedelt waren, konnten wir immunhistologisch nachweisen, dass das T-Zell-Recruitment der Haut ein T-Zell-Rezeptor V $\beta$ -Repertoire mit superantigen-spezifischer Expression aufwies. Bei diesen Patienten exprimierten zwischen 25% und 65% der intradermalen T-Zellen das zugehörige Superantigen-reaktive V $\beta$ -T-Zell-Repertoire gegenüber 5% bis 17% der T-Zellen im Blut. Im Gegensatz hierzu war weder in der Haut noch im Blut eine Akkumulation von nicht-superantigen-reaktiven T-Zell-Subpopulationen nachzuweisen. Als zusätzliche Kontrolle fand sich keine selektive Akkumulation von V $\beta$ -T-Zell-Subpopulationen bei Kindern, die mit non-toxigenic *S. aureus* besiedelt waren. Die immunhistologischen Ergebnisse beweisen, dass bei Kindern mit AD und positivem *S. aureus*-Exotoxinnachweis auf ekzematöser Haut ein Grossteil der dermal akkumulierten T-Zellen auf die Exotoxine/Superantigene reagieren kann. Aus diesen Daten ist zu folgern, dass über eine kontinuierliche Superantigen-Exposition die Akkumulation der T-Zellen (Einwanderung und/oder lokale Proliferation) getriggert wird. Diese T-Zellen können dann wesentlich an der Pathogenese der AD beteiligt sein.

Zwei andere Arbeitsgruppen haben kürzlich auch die TCR-V $\beta$ -Expression in läsionaler atopischer Haut untersucht. Ha et al. (261) konnten bei vier von 14 Patienten mit AD eine Hochregulierung von T-Zellen mit spezifischem TCR-V $\beta$ -Elementen zeigen, wobei in dieser Studie der Nachweis von Superantigen-sezernierenden *S. aureus* nicht erfolgte. Neuber und Mitarbeiter wiesen bei sechs Patienten mit *S. aureus*-Kolonisierung eine Expansion der TCR-V $\beta$ 3, -V $\beta$ 8 und -V $\beta$ 12 in läsionaler atopischer Haut nach (262). Ein kausalpathogenetischer Zusammenhang zwischen den immunologischen Veränderungen der Haut und der Besiedlung mit Exotoxin-bildender *S. aureus* wurde in beiden Studien nicht erbracht (261, 262).

Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen, die erst kürzlich publiziert wurden, bestätigen unsere Hypothese. Zollner und Mitarbeiter wiesen bei erwachsenen AD-

Patienten, die mit Exotoxin-bildenden *S. aureus* besiedelt waren, eine höhere Krankheitsaktivität, eine höhere T-Zell-Aktivierung (HLA-DR- und CD69-Erhöhung) und eine höhere Expression von CD4+CLA im peripheren Blut nach (263). Davison und Mitarbeiter konnten bei Patienten mit einer exazerbierten AD, die durch eine *S. aureus*-Infektion verursacht war, eine erhöhte Expression von Superantigen-reaktiven TCR-V $\beta$ -Elementen im peripheren Blut nachweisen. Hierbei ist besonders zu erwähnen, dass die höhere Expression der V $\beta$ -Elemente nur bei den CLA+ T-Zellen zu beobachten war (264).

Bei Patienten mit AD und gesunden Probanden analysierten Strange et al. im Atopie-Patch-Test die Hautreaktionen nach Applikation mit SEB. Eine inflammatorische Reaktion konnte in den Patch-Test-Läsionen bei den gesunden Probanden und auch bei den Patienten mit AD beobachtet werden. Bei einigen Patienten mit AD war die Entwicklung der ekzematösen Hautveränderungen mit einem Aufflammen der AD assoziiert (265).

In einer zweiten Studie wurde von der gleichen Arbeitsgruppe im Atopie-Patch-Test nach Applikation von SEB bei gesunden Probanden und bei Patienten mit AD eine Hautbiopsie aus den Patch-Test-Läsionen entnommen. In dem Biopstat wurde immunhistologisch das T-Zell-Rezeptor-Repertoire (TZR) analysiert und mit dem T-Zell-Rezeptor-Repertoire (TZR) von den peripheren PBMCs der Probanden verglichen. Als Positivkontrolle haben die Untersucher noch zusätzlich Patch-Läsionen mit Sodium-Lauryl-Sulfat (SLF) induziert und anschließend immunhistologisch untersucht. Bei allen Probanden konnte in den induzierten Patch-Läsionen nach Applikation mit SEB immunhistologisch eine selektive Akkumulation von SEB-reaktiven TZR-V $\beta$ 12 und -V $\beta$ 17 nachgewiesen werden. Eine selektive Hochregulierung von TZR-V $\beta$ 12 und -V $\beta$ 17 konnte weder in den SLF-behandelten Hautstellen noch bei den peripheren PBMCs der Probanden beobachtet werden. Die Autoren der Studie schließen aus diesen Ergebnissen, dass nach experimentieller Applikation von SEB auf intakte Haut eine Dermatitis induziert wird (266). Auch diese experimentellen Daten belegen unsere Ergebnisse, dass über den Einfluss von *S. aureus*-Exotoxinen T-zellvermittelte Hautreaktionen ausgelöst werden können und damit an der Pathogenese der AD beteiligt sind.



*S. aureus*-Exotoxine können wie ein klassisches Allergen funktionieren und eine spezifische IgE-Antikörperbildung induzieren. Im Rahmen der Querschnittsuntersuchung wurde bei 58 Kindern mit AD die Prävalenz und Rolle von Serum-IgE-Antikörpern gegen die *S. aureus*-Exotoxine SEA und SEB untersucht. Des Weiteren haben wir mögliche mikrobiologische Risikofaktoren für die Sensibilisierung gegen *S. aureus*-Exotoxinen untersucht. 20 von 58 (34%) der Kinder mit AD waren sensibilisiert gegen *S. aureus*-Exotoxine (45% gegen SEA und SEB, 45% SEB, 10% SEA). In dieser Gruppe war der Schweregrad der Erkrankung, das Serum-Gesamt-IgE sowie das allergenspezifische IgE, signifikant höher. Die Kolonisierungsrate mit *S. aureus*-Exotoxin sezernierenden Stämmen war in dieser Gruppe gegenüber der nicht-sensibilisierten Gruppe höher. Der Einfluss der *S. aureus*-Kolonisierung auf den Nachweis von spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörpern wurde mittels linearer Regression überprüft. Es wurde eine Varianzaufklärung von 23% für die *S. aureus* Kolonisierung errechnet. Bei 80% der gegen SEA/SEB sensibilisierten Kinder lag eine Hautinfektion mit *S. aureus* vor, gegenüber 21% in der nicht-sensibilisierten Gruppe. Es wurde eine Varianzaufklärung von 37% für den Nachweis von spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörpern und das Vorliegen einer *S. aureus*-Hautinfektion errechnet. Ferner haben wir geprüft, ob der Einfluss der spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörpern auf den Schweregrad der AD (SCORAD-Score) höher ist als das Serum-Gesamt-IgE. Es wurde eine Varianzaufklärung von 17% für die spezifischen SEA/SEB-IgE-Antikörper errechnet und für das Serum-Gesamt-IgE von 9%. Diese Analysen belegen, dass Kinder mit einer mit *S. aureus* verursachten Hautinfektion sowie Kinder mit massiver *S. aureus*-Besiedlung ein hohes Risiko für eine Sensibilisierung gegen diese Exotoxine tragen.

Leung und Mitarbeiter demonstrierten in einer Studie bei 57% von getesteten AD-Seren (32/56) signifikante Titer von spezifischem IgE gegen SEA, SEB und oder TSST-1. Bei frisch isolierten Basophilen von AD-Patienten wurden 5% bis 59% des totalen Histamins in Exposition von SEA, SEB und TSST-1 freigesetzt, wenn bei den Patienten eine spezifische IgE-Antikörperbildung gegen diese *S. aureus*-Exotoxine vorlag. Weiterhin konnten die Autoren der Studie demonstrieren, dass bei „gestrippten“ Basophilen und anschließender Sensibilisierung mit

spezifischem IgE-haltigem Serum durch eine Exposition mit den relevanten Toxinen eine Freisetzung von Histamin erfolgt (232). Nissen und Mitarbeiter beobachteten in einer Studie mit 34 AD Patienten, bei denen klinische Zeichen einer *S. aureus*-Hautinfektion vorlagen, bei 63% der Patienten einen positiven Histamin-Release gegenüber *S. aureus*-Exotoxinen oder *S. aureus*-Lipoteichoicinsäure (221).

Wie von Leung et al. präsentiert wurde, kann ein IgE-abhängiger Mediator-Release bei sensibilisierten Basophilen erfolgen, wenn diese mit Superantigenen kokultiviert wurden (232). Akut freigesetztes Histamin und andere Mediatoren können als Promotor des „Juckreiz-Kratz-Zirkels“ eine Exazerbation der AD fördern. Eine Mastzell-Degranulation resultiert in einer Freisetzung von Mediatoren, Zytokinen und Leukozyten-chemotaktischen Faktoren, die mit einer allergischen Spätphase-Reaktion assoziiert sind (267). Diese Faktoren decken sich mit der Beobachtung, dass spezifische Antikörper gegen *S. aureus*-Exotoxine in der Patientengruppe gefunden wurden, die ein deutlich schwereres Krankheitsbild mit polyvalenter Sensibilisierung gegen Inhalations- und Nahrungsmittelallergene präsentieren. Unsere Studienergebnisse zeigen, dass eine Sensibilisierung gegen *S. aureus*-Exotoxine in der Exazerbation der AD involviert ist. Ergebnisse einer anderen Arbeitsgruppe, die erst kürzlich publiziert wurde, stützen wesentlich unsere Hypothese (268): auch hier konnte gezeigt werden, dass der Nachweis von spezifischen IgE-Antikörpern gegen *S. aureus*-Exotoxine mit dem klinischen Schweregrad der AD korrelierte.

Eine lokale immunmodulatorische Therapie kann bei Patienten mit AD die *S. aureus*-Besiedlungsdichte auf der ekzematösen Haut beeinflussen. In mehreren prospektiven Studien zeigten mikrobiologische Analysen einen Rückgang der *S. aureus*-Besiedlungsdichte nach therapeutischer Intervention mit lokalen Steroiden, wobei diese stets mit einer Besserung der allergischen Hautentzündung verbunden war (155, 156). Die besten Therapieerfolge im Hinblick auf die *S. aureus*-Besiedlung wurden beobachtet, wenn besonders hochpotente lokal wirksame Steroide in Kombination mit antibiotischer Therapie eingesetzt wurden (154). Keine wissenschaftlichen Erkenntnisse liegen darüber vor, ob eine immunsuppressive Therapie mit CyA einen Effekt auf die *S. aureus*-Besiedlung der

ekzematösen Haut hat. Es existieren lediglich einzelne Fallberichte über das Auftreten von systemischen *S. aureus*-Infektion unter CyA-Therapie bei Patienten mit AD (269, 270). Aber auch ohne immunsuppressive Therapie tragen Patienten mit schwerer AD ein hohes Risiko für eine *S. aureus*-Infektion. In unserer Querschnittsstudie haben wir bei einem risikoangereicherten Patientenkollektiv (stationär behandelte Patienten), das nicht systemisch immunsuppressiv behandelt wurde, bei ca. 40% eine Hautinfektion und zeitgleich bei 15% eine invasive *S. aureus*-Infektion diagnostiziert. Aus diesem Grunde erschien es dringend notwendig, während der CyA-Studie im Rahmen von Sicherheitsparametern eine mikrobiologische Diagnostik durchzuführen. Ziel dieser Untersuchungen war es, den CyA-Effekt im Hinblick auf die *S. aureus*-Kolonisierung einer systematischen Prüfung zu unterziehen.

Der Ausgangs-SCORAD-Index unterschied sich nicht zwischen der *S. aureus*-infizierten Gruppe und der *S. aureus*-kolonisierten Gruppe. Der Schweregrad war nach der achtwöchigen CyA-Therapie in der *S. aureus*-infizierten Gruppe noch deutlich höher als in der *S. aureus*-kolonisierten Gruppe (mittlerer SCORAD-Score 39 versus 18). Diese Differenz war auch noch vier Wochen nach Beendigung der CyA-Therapie nachzuweisen (mittlerer SCORAD-Score 58 versus 28). Auffällig war, dass die schlechteren therapeutischen Ergebnisse in dieser Gruppe mit einer höheren Prävalenz von Exotoxin-sezernierenden *S. aureus* assoziiert waren. Trotz konsequenter praktizierter antibiotischer Behandlung war auf der ekzematösen Haut unter der CyA-Therapie kein *S. aureus*-reduzierender Effekt nachzuweisen.

Die *S. aureus*-kolonisierte Patientengruppe zeigte zum Zeitpunkt des Therapiebeginns mit CyA eine extrem hohe Kolonisierungsdichte. Im Vergleich zur *S. aureus*-infizierten Gruppe war unter der CyA-Therapie eine deutliche Reduktion der *S. aureus*-Kolonisierungsdichte auf der Haut zu beobachten. Der therapeutische Effekt von CyA war in dieser Gruppe besser und der Trend blieb auch nach Absetzen der Therapie stabil. Bemerkenswert ist aber, dass aus den beiden Gruppen bei keinem der Kinder eine vollständige Erregereradikation erreicht wurde.

Die Auswertungen zur Lebensqualität von Müttern, deren Kinder an einer schweren AD erkrankt waren, zeigen deutlich, dass die Mütter durch die schwere und chronische Erkrankung ihrer Kinder stark belastet sind. Es wirken sich besonders negativ die Schlafstörungen der erkrankten Kinder auf das psychosomatische Wohlbefinden der Mütter aus. In Übereinstimmung mit Daud et al. (205) konnte gezeigt werden, dass die Beeinträchtigung der Lebensqualität der Mütter mit dem Schweregrad der AD einherging. Bei Besserung des Hautzustandes durch geeignete therapeutische Massnahmen war bei den betroffenen Müttern auch eine Besserung der Lebensqualität nachzuweisen. Die Mütter mit *S. aureus*-infizierten Kindern waren im Sozialleben gegenüber den nicht-infizierten Kindern deutlich mehr eingeschränkt, was mit einer höheren Krankheitsaktivität ihrer Kinder assoziiert war.

## Literaturverzeichnis

1. Saarinen UM, Kajosaari M. Breastfeeding as prophylaxis against atopic disease: prospective follow-up study until 17 years old. *Lancet* 1995; **346**: 1065-1069.
2. Bergmann RL, Edenharter G, Bergmann KE, Forster J, Bauer CP, Wahn V, Zepp F, Wahn U. Atopic dermatitis in early infancy predicts allergic airway disease at 5 years. *Clin Exp Allergy* 1998; **28**: 965-970.
3. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1980; **92**: 44-47.
4. Sampson HA. Pathogenesis of eczema. *Clin Exp Allergy* 1990; **20**: 459-467.
5. Beltrani VS. The clinical spectrum of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; **104**: S87-98.
6. Zachary CB, Allen MH, MacDonald DM. In situ quantification of T-lymphocyte subsets and Langerhaus cells in the inflammatory infiltrate of atopic eczema. *Br J Dermatol* 1985; **112**: 112-149.
7. Van Joost T, Kozel MMA, Tank B, Troost R, Prens EP. Cyclosporine in atopic dermatitis. Modulation in the expression of immunological markers in lesional skin. *J Am Acad Dermatol* 1992; **27**: 922-928.
8. Bock SA, Lee WY, Remigio LK, May CD. Studies of hypersensitivity reactions to foods in infants and children. *J Allergy Clin Immunol* 1978; **62**: 327-334.
9. Niggemann B, Reibel S, Wahn U. The atopy patch test (APT)- a useful tool for the diagnosis of food allergy in children with atopic dermatitis. *Allergy* 2000; **55**: 281-285.
10. Reitamo S, Visa K, Kahonen K, Kyhk K, Stubb S, Salo O. Eczematous reactions in atopic dermatitis patients caused by epicutaneous testing with inhalant allergens. *Br J Dermatol* 1986; **140**: 303-309.
11. Bruijnzeel-Koomen CAFM, van Wichen DF, Spry CJF, Venge P, Bruijnzeel PLB. Active participation of eosinophils in patch test reactions to inhalent allergens in patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1988; **118**: 229-238.
12. Ramb-Lindauer CH, Feldmann A, Rotte M, Neumann C. Characterization of grass pollen reactive T-cell lines derived from lesional atopic skin. *Arch Dermatol Res* 1991; **283**: 71-76.
13. Sager N, Feldmann A, Schilling G, Kreitsch P, Neumann C. House dust mitespecific T-cells in the skin of subjects with atopic dermatitis frequency and lymphokine profile in the allergen patch test. *J Allergy Clin Immunol* 1992; **89**: 801-810.
14. Saurat J-H. Eczema in primary immune-deficiencies: clues to the pathogenesis of atopic dermatitis with special reference to the Wiskott-Aldrich syndrome. *Acta Derm Venereol* 1985; **114**: 125-128.
15. Holt PG, Leivers S, Batty J. Adoptive transfer of 'persistent' IgE responses in mice in the absence of secondary antigenic stimulation. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1981; **66**: 357-364.
16. Tucker J, Barnetson R St C, Eden OB. Atopy after bone marrow transplantation. *Br Med J* 1985; **290**: 116-117.
17. Agosti JM, Sprenger JD, Lum LG, Witherspoon RP, Fisher LD, Storb R, Herderson WR. Transfer of allergen-specific IgE-mediated hypersensitivity with allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1988; **319**: 1623-1623.
18. Williams HC. Is the prevalence of atopic dermatitis increasing. *Clin Exp Dermatol* 1992; **17**: 385-391.
19. Aberg N, Hesselmar B, Aberg B, Eriksson B. Increase of asthma, allergic rhinitis and eczema in Swedish schoolchildren between 1979 and 1991. *Clin Exp Allergy* 1995; **25**: 815-819.

20. Burr ML, Butland BK, King S, Vaughan-Williams E. Changes in asthma prevalence: two surveys 15 years apart. *Arch Dis Child* 1989; **64**: 1452-1456.
21. Schultz Larsen F, Diepgen T, Svensson A. The occurrence of atopic dermatitis in Northern Europe: an international questionnaire study. *J Am Acad Dermatol* 1996; **34**: 760-764.
22. Williams H, Robertson C, Stewart A, Ait-Khaled N, Anabwani G, Anderson R, Asher I, Beasley R, Bjorksten B, Burr M, Clayton T, Crane J, Ellwood P, Keil U, Lai C, Mallol J, Martinez F, Mitchell E, Montefort S, Pearce N, Shah J, Sibbald B, Strachan D, et al. Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the international study of asthma and allergies in childhood. *J Allergy Clin Immunol* 1999; **103**: 125-138.
23. Kjellman NIM. Atopic disease in seven-year old children. Incidence in relation to family history. *Acta Paediatr Scand* 1977; **66**: 465-471.
24. Bergmann RL, Bergmann KE, Lau-Schadendorf S, Wahn U. Atopic diseases in infancy. The German Multicenter Atopy Study (MAS-90). *Pediatr Allergy Immunol* 1994; **5** (Suppl 1): 19-25.
25. Schultz LF. Atopic dermatitis: a genetic-epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Acad Dermatol* 1993; **28**: 719-723.
26. Liu X, Nickel R, Beyer K, Wahn U, Ehrlich E, Freidhoff LR, Björkstén B, Beaty TH, Huang S-K, and the MAS-Study Group. An IL 13 coding region is associated with high total serum IgE level and atopic dermatitis in the german multicenter atopy study (MAS-90). *J Allergy Clin Immunol* 2000; **106**: 167-170.
27. Nickel RG, Casolaro V, Wahn U, Beyer K, Barnes KC, Plunkett BS, Freidhoff LR, Sengler C, Plitt JR, Schleimer RP, Caraballo L, Naidu RP, Levett PN, Beaty TH, Huang SK. Atopic dermatitis is associated with a functional mutation in the promotor of the C-C chemokine RANTES. *J Immunol* 2000; **164**: 1612-1616.
28. Mao XQ, Shirakawa T, Yoshikawa T, Yoshikawa K, Kawai M, Sasaki S, Enomoto T, Hashimoto T, Furuyama J, Hopkin JM, Morimoto K. Association between genetic Variants of mast-cell chymase and eczema. *Lancet* 1996; **348**: 581-583.
29. Hershey GK, Friedrich MF, Esswein LA, Thomas MT, Chatila TA. The association of atopy with gain-of-function mutation in the  $\alpha$  subunit of the interleukin-4 receptor. *N Engl J Med* 1997; **337**: 1720-1725.
30. Forrest S, Dunn K, Elliott K, Fitzpatrick E, Fullerton J, McCarthy M, Brown J, Hill D, Williamson R. Identifying genes predisposing to atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 1999; **104**: 1066-1070.
31. Golding J, Peters I. The epidemiology of childhood eczema. A population based study of associations. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1987; **1**: 67-79.
32. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *Br Med J* 1990; **299**: 1259-1260.
33. Strachan DP, Taylor EM, Carpenter RG. Family structure, neonatal infection, and hay fever in adolescence. *Arch Dis Child* 1996; **74**: 422-426.
34. Räsänen M, Laitinen T, Kaprio J, Koskenvuo M, Laitinen LA. Hay fever, asthma and number of older siblings-a twin study. *Clin Exp Allergy* 1997; **27**: 515-518.
35. Jarvis D, Chinn S, Luczynska C, Burney P. The association of family size with atopy and atopic diseases. *Clin Exp Allergy* 1997; **27**: 240-245.
36. Von Mutius E, Fritsch C, Nicolai T, Roell G, Theimann HH. Prevalence of asthma and atopy in two areas of West and East Germany. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; **149**: 358-364.
37. Von Mutius E, Illi S, Nicolai T, Fernando DM. Relation of indoor heating with asthma, allergic sensitisation, and bronchial responsiveness: survey of children in south Bavaria. *Br Med J* 1996; **312**: 1448-1450.

38. Svanes C, Jarvis D, Chinn S, Burney P, for the European Community Respiratory Health Survey. Childhood environment and adult atopy: Results from the European Community Respiratory Health Survey. *J Allergy Clin Immunol* 1999; **103**: 415-420.
39. Alm JS, Swartz J, Lilja G, Scheynius A, Pershagen G. Atopy in children of families with anthroposophic lifestyle. *Lancet* 1999; **353**: 1485-1488.
40. Borrich L, Rosenwasser LJ. Update on cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 1996; **97**: 719-734.
41. Romagni S. Induction of Th1 and Th2 responses: a key role for the „natural“ immune response. *Immunol Today* 1992; **13**: 379.
42. Romagny S. The Th2 hypothesis in allergy.-„Eppur si muove!“. *Allergy Clin Immunol Intern* 1998; **10**: 158-165.
43. Kapsenberg ML, Hilkens CMU, Jansen HM, Bos JD, Snijders A, Wierenga EA. Production and modulation of T-cell cytokines in atopic allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; **110**: 107-113.
44. Shaheen SO, Aaby P, Hall AJ, Barker DJ, Heyes CB, Shiell AW, Goudiaby A. Measles and atopy in Guinea-Bissau. *Lancet* 1996; **347**: 1792-1796.
45. Matricardi PM, Rosimini F, Ferrigno L, Nisini R, Rapicetta M, Chionne P, Stroffolini T, Pasquini P, D'Amelio R. Cross sectional retrospective study of prevalence of atopy among Italian military students with antibody against hepatitis a virus. *Br Med J* 1997; **314**: 999-1003.
46. Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin response and atopic disorder. *Science* 1997; **275**: 77-79.
47. Farooqi IS, Hopkin JM. Early childhood infection and atopic disorder. *Thorax* 1998; **52**: 927-932.
48. Oro A, Guarino T, Driver R, Steinmann L, Umetsu D. Regulation of disease susceptibility: decreased prevalence of IgE-mediated allergic diseases in patients with multiple sclerosis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; **97**: 1402-1408.
49. Tang L, Benjaponpitak S, DeKruyff RH, Umetsu D. Reduced prevalence of allergic disease in patients with multiple sclerosis is associated with enhanced IL-12 production. *J Allergy Clin Immunol* 1998; **102**: 428-435.
50. Shida K, Makino K, Morishita A, Tokamizawa K, Hachimura R, Ametani A, Sato T, Kumagai Y, Habu S, Kaminogawa S. *Lactobacillus casei* inhibits antigen-induced IgE secretion through regulation of cytokine production in murine splenocyte cultures. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; **115**: 278-287.
51. Murosaki S, Yamamoto Y, Ito K, Inokuchi T, Kusaka H, Ikeda H, Yoshikai Y. Heatkilled *Lactobacillus plantarum* L-137 suppresses naturally fed antigen-specific IgE production by stimulation of IL-12 production. *J Allergy Clin Immunol* 1998; **102**: 57-64.
52. Brabäck L, Breborowicz A, Julge K, Knutsson A, Riiikäär M-A, Vasar M, Björkstén B. Risk factors for respiratory symptoms and atopic sensitisation in the Baltic area. *Arch Dis Child* 1995; **72**: 487-493.
53. Sepp E, Julge K, Vasar M, Naaber P, Björkstén B, Mikelsaar M. Intestinal microflora of Estonian and Swedish infants. *Acta Paediatr* 1997; **86**: 956-961.
54. Majamaa H, Isolauri E. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; **99**: 179-185.
55. Gereda JE, Leung DYM, Thatayatikom A, Streib JE, Price MR, Kinnert MD, Liu AH. Relation between house-dust endotoxin exposure, type 1 T-cell development, and allergen sensitisation in infants at high risk of asthma. *Lancet* 2000; **355**: 1680-1683.
56. Leung DYM, Rhodes AR, Geha RS. Enumeration of T cell subsets in atopic dermatitis using monoclonal antibodies. *J Allergy Clin Immunol* 1981; **67**: 450-455.
57. Leung DYM, Wood N, Dubey D, Rhodes AR, Geha RS. Cellular basis of defective cell-mediated lympholysis in atopic dermatitis. *J Immunol* 1983; **130**: 1678-1682.

58. McCoy JP, Hanley-Yanez K, McCaslin D, Tharp MD. Detection of decreased cytotoxic effector CD8+ T lymphocytes in atopic dermatitis by flow cytometry. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 688-690.
59. Walker C, Kägi MK, Ingold P, Braun P, Blaser K, Bruijnzeel-Koomen CAFM, Wüthrich B. Atopic dermatitis: correlation of peripheral blood T cell activation, eosinophilia and serum factors with clinical severity. *Clin Exp Allergy* 1992; 23: 145-153.
60. Sowden JM, Powell RJ, Allen BR. Selective activation of circulating CD4+ lymphocytes in severe adult atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1992; 127: 228-232.
61. Lobitz WC, Honeyman JF, Winkler NW. Suppressed cell mediated immunity in two adults with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1972; 86: 317-328.
62. Shimizu T, Abe R, Ohkawara A, Nishihira J. Increased production of macrophage migration inhibitory factor by PBMCs of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 659-664.
63. Bratton KI, Hamid Q, Boguniewicz M, Doherty DE, Kaily JM, Leung DYM. GM-CSF inhibition of monocyte apoptosis contributes to the chronic monocyte activation in atopic dermatitis. *J Clin Invest* 1995; 95: 211-218.
64. Magnani S, Maggi E, Del Prete P, Parronchi P, Macchia D, Tiri A, Ricci M. Role of interleukin-4 and gamma interferon in the regulation of human IgE synthesis: possible alterations in atopic patients. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 88: 111-113.
65. Kimura M, Tsuruta S, Yoshida T. Unique profile of IL-4 and IFN- $\gamma$ -gamma production by peripheral blood mononuclear cells in infants with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 238-244.
66. Kimura M, Tsuruta S, Yoshida T. Correlation of house dust mite-specific lymphocyte proliferation with IL-5 production, eosinophilia, and the severity of symptoms in infants with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 84-89.
67. Renz H, Jujo K, Bradley KL, Domenico J, Gelfand EW, Leung DYM. Enhanced IL-4 production and IL-4 receptor expression in atopic dermatitis and their modulation by interferon-gamma. *J Invest Dermatol* 1992; 99: 403-408.
68. Jujo K, Renz H, Abe J, Gelfand EW, Leung DYM. Decreased gamma interferon and increased interleukin 4 production promote IgE synthesis in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 323-330.
69. Bradding P, Feather IH, Howarth PH, Müller R, Roberts JA, Britten K, Bews JP, Hunt TC, Okayama Y, Heusser CH, Bullock GR, Church MK, Holgate ST. Interleukin 4 is localized to and released by human mast cells. *J Exp Med* 1992; 176: 1381-1386.
70. Möller GM, de Jong Taw, von der Kwast TH, Overbeek SE, Wierenga-Wolf AF, Thepen T, Hoogsteden HC. Immunolocalization of interleukin-4 in eosinophils in the bronchial mucosa of atopic asthmatics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14: 439-443.
71. Vercelli D, Geha RS. Regulation of IgE synthesis; from membrane to the genes. *Springer Semin Immunopathol* 1993; 15: 5-16.
72. Mekori YA, Metcalfe DD. Mast-cell - T cell interactions. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 517-523.
73. Renz H, Brodie C, Bradley K, Leung DYM, Gelfand EW. Enhancement of IgE production by anti-CD40 antibody in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 658-668.
74. Lehmann DA, Lehmann AA, Coffmann RL. Interleukin-4 causes isotype switching to IgE in T cell stimulated clonal B cell cultures. *J Exp Med* 1988; 168: 853-862.
75. Vercelli D, Jahara HH, Arai KI, Geha RS. Induction of human IgE synthesis requires interleukin 4 and T/B cell interactions involving the T cell receptor/CD 23 complex and MHC class II antigens. *J Exp Med* 1989; 169: 1295-1307.
76. Rousset F, Robert J, Andary M, Bonnin JP, Souillet G, Cretien I, Briere F, Pene J, de Vries JE. Shifts in interleukin-4 and interferon- $\gamma$  production by T-cells of patients with elevated serum IgE levels and the modulatory effect of these lymphokines on spontaneous IgE synthesis. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 58-69.



77. Gauchat J-E, Lehmann DA, Coffman RL, Bascan H, de Vries JE. Structure and expression of germ-line  $\epsilon$  transcripts in human B cells induced by interleukin-4 to switch to IgE production. *J Exp Med* 1990; 172: 463-473.
78. Schleimer RP, Sterbinsky SA, Kaiser J, Bickel CA, Klunk DA, Tomioka K, Newman W, Luscinkas FM, Gimbrone MA, McIntyre BW, et al . Interleukin-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium: association with expression of VCAM-1. *J Immunol* 1992; 148: 1086-1092.
79. De Vries IJM, Langeveld-Wildschut EG, van Reijssen FC, Dubois GR, van de Hoek JA, Bihari IC, van Wichen D, de Weger RA, Knol EF, Thepen T, Bruijnzeel-Koomen CAFM . Adhesion molecule expression on skin endothelia in atopic dermatitis: Effects of TNF- $\alpha$  and IL-4. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 461-468.
80. Oettgen HC, Geha RS. IgE in asthma and atopy: cellular and molecular connections. *J Clin Invest* 1999; 104: 829-835.
81. Nickel R, Beck LA, Stellato C, Schleimer RP. Chemokines and allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 723-742.
82. Lopez AF, Shannon MF, Chia M-M, Park L, Vadas MA. Regulation of human eosinophil production and function by interleukin-5. *Immunol Ser* 1992; 57: 549-571.
83. Yamaguchi Y, Suda T, Oha S, Toinaga K, Miura Y, Kasahara T. Analysis of the survival of mature human eosinophils: interleukin-5 prevents apoptosis in mature human eosinophils. *Blood* 1991; 78: 2542-2547.
84. Weller PF. Role of eosinophils in allergy. *Curr Opin Immunol* 1992; 4: 782-787.
85. Yamamura M, Uyemura K, Deans RJ, Weinberg K, Rea TH, Bloom BR, Modlin RL. Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. *Science* 1991; 254: 277-279.
86. Nakane A, Numata A, Asano M, Kohanawa M, Chen Y, Minagawa T. Evidence that endogenous gamma interferon is produced early in listeria monocytogenes infection. *Infect Immun* 1990; 58: 2386-2388.
87. Hsieh CS, Macatonia SE, Tripp CS, Wolf SF, O'Garra A, Murphy KM. Development of Th1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. *Science* 1993; 260: 547-549.
88. Pirmez C, Yamamura M, Uyemura M, Paes-Oliveira F, Conceicao S, Modlin RL. Cytokine patterns in the pathogenesis of human leishmaniasis. *J Clin Invest* 1993; 91: 1390-1395.
89. Caceres-Dittmar G, Tapia FJ, Sanches MA, Yamamura M, Uyemura K, Modlin RL, Bloom BR, Convit J. Determination of the cytokine profile in american cutaneous leishmaniasis using the polymerase chain reaction. *Clin Exp Immunol* 1993; 91: 500-505.
90. Karp CL, EL Safi SH, Wynn TA, Satti MMH, Kordofani FA, Hashim M, Hag-Ali M, Neva FA, Nutmann TB, Sacks DL. In vivo cytokine profiles in patients with Kala-azar. Marked elevation of both interleukin-10 and interferon-gamma. *J Clin Invest* 1993; 91: 1644-1648.
91. Klyczek KK, Murasko DM, Blank KJ. Interferon- $\gamma$ , Interferon- $\alpha/\beta$ , and tumor necrosis factor differentially affect major histocompatibility complex class I expression in murine leukemia Virus-induced tumor cell lines. *J Immunol* 1987; 139: 2641-2648.
92. Pène J, Rousset F, Chrétien I, Bonnefoy J-Y, Spits H, Yokota T, Arai K-I, Banchereau J. IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin-4 and suppressed by interferons and prostaglandin E<sub>2</sub>. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6880-6884.
93. Tang MLK, Varigos G, Kemp AS. Reduced interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) secretion with increased IFN- $\gamma$  mRNA expression in atopic dermatitis: evidence for a posttranscriptional defect. *Clin Exp Immunol* 1994; 97: 483-490.
94. Vercelli D, Jabara HH, Lauener RP, Geha RS. IL-4 inhibits the synthesis of IFN- $\gamma$  and induces the synthesis of IgE in human mixed lymphocyte cultures. *J Immunol* 1990; 144: 570-573.

95. Gajewski TF, Fitch FW. Anti-proliferative effect of IFN- $\gamma$  in immune regulation. *J Immunol* 1988; **140**: 4245-4252.
96. Parronchi P, Mohapatra S, Sampognaro S, Gianarini L, Wahn U, Chong P, Mohapatra S, Maggi E, Renz H, Romagnani S. Effects of interferon- $\alpha$  on cytokine profile. T cell receptor repertoire and peptide reactivity of human allergen-specific T cells. *Eur J Immunol* 1996; **26**: 697-703.
97. Maggi E, Giudizi MG, Biagiotti R, Annunziati F, Manetti R, Piccinni M-P, Parronchi P, Sampognaro S, Gianarini L, Zuccati G, Romagnani S. Th2-like CD8<sup>+</sup> T cells showing B cell helper function and reduced cytolytic activity in human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Exp Med* 1994; **180**: 489-495.
98. Parronchi P, Macchia D, Piccinni MP, Biswas P, Simonelli C, Maggi E, Ricci M, Ansari AA, Romagnani S. Allergen- and bacterial antigen-specific T cell clones established from atopic donors show a different profile of cytokine production. *Proc Natl Acad USA* 1991; **88**: 4538-4542.
99. Sad S, Marcotte R, Mosmann TR. Cytokine-induced differentiation of precursor mouse CD8<sup>+</sup> T cells secreting Th1 or Th2 cytokines. *Immunity* 1995; **2**: 271-279.
100. Meissner N, Kussebi F, Ratti H, Baumgarten C, Werfel T, Heusser C, Renz H. A subset of CD8<sup>+</sup> T cells from allergic patients produce IL-4 and stimulate IgE production in vitro. *Clin Exp Allergy* 1997; **16**: 39-42.
101. Kuchroo V, Das M, Brown JA, Ranger AM, Zamvil SS, Sobel RA, Weiner HV, Nabavi N, Glincher LH. B7-1 and B7-2 costimulatory molecules activate differentially the Th1/Th2 developmental pathways: application to autoimmune disease therapy. *Cell* 1995; **80**: 707-718.
102. Freeman G, Bousoiotis V, Anumanthan A, Bernstein GM, Ke XY, Rennert PD, Gray GS, Gribben JG, Nadler LM. B7-2 but not B7-1 preferentially costimulates the initial production of IL-4. *Immunity* 1995; **2**: 523-532.
103. Jirapongsananuruk O, Hofer MF, Trumble AE, Norris DA, Leung DYM. Enhanced expression of B7-2 (CD86) in patients with atopic dermatitis: a potential role in the modulation of IgE synthesis. *J Immunol* 1998; **160**: 4622-4627.
104. Hauser C, Snapper CM, Ohara J, Paul WE, Katz SI. T helper cells grown with hapten-modified cultured Langerhans: cells produce interleukin 4 and stimulate IgE production by B cells. *Eur J Immunol* 1989; **19**: 2435-2451.
105. Sawai T, Ikai K, Uehara M. Elevated cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase activity in peripheral blood mononuclear leucocytes from children with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1995; **132**: 22-24.
106. Li SH, Chan SC, Toshita A, Leung DYM, Hanifin JM. Synergistic effects of interleukin 4 and interferon-gamma on monocyte phosphodiesterase activity. *J Invest Dermatol* 1992; **99**: 65-71.
107. Chan SC, Li S-H, Hanifin JM. Increased Interleukin-4 production by atopic mononuclear leukocytes correlates with increased cyclic adenosine monophosphate-phosphodiesterase activity and is reversible by phosphodiesterase inhibition. *J Invest Dermatol* 1993; **100**: 681-684.
108. Hanifin J, Chan S, Cheng J. Type 4 phosphodiesterase inhibitors have clinical and in vitro anti-inflammatory effects in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1996; **107**: 51-56.
109. Chan SC, Kim JW, Henderson WR, Hanifin JM. Altered prostaglandin E<sub>2</sub> regulation of cytokine production in atopic dermatitis. *J Immunol* 1993; **151**: 3345-3352.
110. Butcher EC, Picker LJ. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 1996; **272**: 60-66.
111. Picker LJ, Martin RJ, Trumble A, Newmann LS, Collins PA, Bergstresser PR, Leung DY. Differential expression of lymphocyte homing receptors by human memory/effector T cells in pulmonary versus cutaneous immune effector sites. *Eur J Immunol* 1994; **24**: 1269-1277.

112. Santamaria Babi LF, Picker LJ, Perez Soler MT, Drezimalla K, Flohr P, Blaser K, Hauser C. Circulating allergen-reactive T cells from patients with atopic dermatitis and allergic contact dermatitis express skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen. *J Exp Med* 1995; **181**: 1935-1940.
113. Akdis M, Akdis CA, Weigl L, Disch R, Blaser K. Skin-homing, CLA<sup>+</sup> memory T cells are activated in atopic dermatitis and regulate IgE by an IL-13-dominated cytokine pattern: IgG4 counter-regulation by CLA-memory T cells. *J Immunol* 1997; **159**: 4611-4619.
114. Mihm MC, Soter NA, Dvorak HF, Austen KF. The structure of normal skin and the morphology of atopic eczema. *J Invest Dermatol* 1976; **67**: 305-312.
115. Garnier LS, Thivolet J, van Dogen M, Viac J, Frappa Z. Cyclosporin A improves severe atopic dermatitis in adults and reduces activated CD4<sup>+</sup> T lymphocytes. *Eur J Dermatol* 1995; **5**: 481-485.
116. Leung DYM, Bahn AK, Schneeberger EE, Geha RS. Characterization of the mononuclear cell infiltrate in atopic dermatitis using monoclonal antibodies. *J Allergy Clin Immunol* 1983; **71**: 47-56.
117. Bos JD, Hagenara C, Das Pk, Krieg SR, Voorn WJ, Kapsenberg ML. Predominance of "memory" T cells (CD4<sup>+</sup>, CDw29<sup>+</sup>) over "naive" T cells (CD4<sup>+</sup>, CD45R0<sup>+</sup>) in both normal and diseased human skin. *Arch Dermatol Res* 1989; **81**: 24-30.
118. Piletta PA, Wirth S, Hommel L, Saurat JH, Hauser C. Circulating skin-homing T cells in atopic dermatitis. Selective up-regulation of HLA-DR, interleukin-2R and CD30 and decrease after combined UV-A and UV-B phototherapy. *Arch Dermatol* 1996; **132**(10): 1171-1176.
119. Leung DYM, Schneeberger EE, Siraganian RP, Geha RS, Bhan AK. The presence of IgE on macrophages and dendritic cells infiltrating into the skin lesions of atopic dermatitis. *Clin Immunol Immunopathol* 1987; **42**: 328-337.
120. Bruijnzeel-Koomen C, von Wichem DF, Toonstra J, Berrens L, Bruijnzeel PLB. The presence of IgE molecules on epidermal Langerhans cells in patients with atopic dermatitis. *Arch Derm Res* 1986; **287**: 199-205.
121. Cheng JF, Ott NL, Peterson EA, George TJ, Hukee MJ, Gleich GJ, Leifermann KM. Dermal eosinophils in atopic dermatitis undergo cytolytic degeneration. *J Allergy Clin Immunol* 1997; **99**: 683-692.
122. Gleich GJ, Leifermann KM. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2000; **105**: 651-663.
123. Pucci N, Lombardi E, Novembre E, Farina S, Bernardini R, Rossi E, Favilli T, Vierucci A. Urinary eosinophil protein X and serum eosinophil cationic protein in infants and young children with atopic dermatitis: correlation with disease activity. *J Allergy Clin Immunol* 2000; **105**: 353-357.
124. Hamid Q, Boguniewicz M, Leung DYM. Differential in situ cytokine gene expression in acute vs chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest* 1994; **94**: 870-876.
125. Van der Heijden FL, Wierenga EA, Bos JD, Kapsenberg ML. High frequency of IL-4 producing CD4<sup>+</sup> allergen-specific T lymphocytes in atopic dermatitis lesional skin. *J Invest Dermatol* 1991; **97**: 389-394.
126. Hamid Q, Naseer T, Minshall EM, Song YL, Boguniewicz M, Leung DYM. In vivo Expression of IL-12 and IL-13 in atopic dermatitis. *J Allergy Immunol* 1996; **98**: 225-231.
127. Grewe M, Bruijnzeel-Koomen CAFM, Schöpf E, Thepen T, Langeveld-Wildschut AG, Ruzicka T, Krutmann J. A role for Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. *Immunol Today* 1998; **19**: 359-361.
128. Grewe M, Gyufku K, Schopf K, Krutman J. Lesional expression of interferon-gamma in atopic eczema. *Lancet* 1994; **343**: 25-26.
129. Grewe M, Czech W, Morita A, Werfel T, Klammer M, Kapp A, Ruzicka T, Schopf E, Krutmann J. Human eosinophils produce biologically active IL-12: implications for control of T cell responses. *J Immunol* 1998; **161**: 415-420.

130. Schmitt E, Hoehn P, Huels C, Goedert S, Palm N, Rude E, Germann T. T helper type 1 development of naive CD4+ T-cells requires the coordinate action of interleukin-12 and interferon- $\gamma$  and is inhibited by transforming growth factor- $\beta$ . *Eur J Immunol* 1994; 24: 793-798.
131. Kennedy MK, Picha KS, Shanebeck KD, Anderson DM, Grabstein KH. Interleukin-12 regulates the proliferation of Th1, but not Th2 or Th0, clones. *Eur J Immunol* 1994; 24: 2271-2278.
132. Thepen T, Langeveld-Wildschut AG, Bihari IC, van Vichen DF, van Reijssen FC, Mudde GC, Bruijnzeel-Koomen CAFM. Biphasic response against aeroallergen in atopic dermatitis showing a switch from an initial TH2 response to a TH1 response in situ: An immunocytochemical study. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 828-837.
133. Grewe M, Walther S, Gyufko K, Czeck W, Schöpf E, Krutmann J. Analysis of the cytokine pattern expressed in situ in inhalant allergen patch test reaction of atopic dermatitis patients. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 407-410.
134. Van Reijssen FC, Bruijnzel-Koomen CAFM, Kalthoff FS, Maggi E, Romagnani S, Mudde GC. Skin-derived aeroallergen-specific T-cell clones of the TH2 phenotype in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 184-193.
135. Werfel T, Morita A, Grewe M, Renz H, Wahn U, Krutmann J, Kapp A. Allergen specificity of skin-infiltrating T cells is not restricted to a type-2 cytokine pattern in chronic skin lesions of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1996; 107: 871-876.
136. Laberge S, Ghaffar O, Boguniewicz M, Center DM, Leung DYM, Hamid Q. Association of increased CD4+ T-cell infiltration with increased IL-16 gene expression in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 645-650.
137. Center DM, Kornfeld H, Cruikshank WW. Interleukin-16 and its function as a CD4 ligand. *Immunol Today* 1996; 17: 476-481.
138. Bratton DL, Hamid Q, Boguniewicz M, Doherty DE, Kailey JM, Leung DYM. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor contributes to enhanced monocyte survival in chronic atopic dermatitis. *J Clin Invest* 1995; 95: 211-218.
139. Pastore S, Fanale-Belasio E, Albanesi C, Chinni LM, Giannetti A, Girolomoni G. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor is overproduced by keratinocytes in atopic dermatitis. Implications for sustained dendritic cell activation in the skin. *J Clin Invest* 1997; 99: 3009-3017.
140. Pastore S, Corinti S, La Placa M, Didona B, Girolomoni G. Interferon-gamma promotes exaggerated cytokine production in keratinocytes cultured from patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 538-544.
141. Yamada H, Matsukura M, Yudate T, Chihara J, Stingl G, Tezuka T. Enhanced production of RANTES, an eosinophil chemoattractant factor, by cytokine-stimulated epidermal keratinocytes. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 114 (1 Suppl): 28-32.
142. Sampson HA. Food allergy. Part 1: Immunopathogenesis and clinical disorders. *Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 717-728.
143. Lau S, Falkenhorst G, Weber A, Werthmann I, Lind P, Buettner-Goetz P, Wahn U. High mite-allergen exposure increases the risk of sensitization in atopic children and young adults. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 718-725.
144. Hide DW, Matthews S, Matthews L, Stevens M, Ridout S, Twiselton R, Gant C, Arshad SH. Effect of allergen avoidance in infancy on allergic manifestations at age two years. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 842-846.
145. Secrist H, Chelen CJ, Wen Y, Marshall JD, Umetsu DT. Allergen immunotherapy decreases interleukin 4 production in CD4+ T cells from allergic individuals. *J Exp Med* 1993; 178: 2123-2130.
146. Schleimer RP. An overview of glucocorticoid anti-inflammatory actions. *Eur J Clin Pharmacol* 1993; 45: 3-7.
147. Barnes PJ. Mechanisms of action of glucocorticoids in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: S21-27.

148. Didonato JA, Saatcioglu F, Karin M. Molecular mechanisms of immunosuppression and anti-inflammatory activities by glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; **154**: S11-15.
149. Jirapongsananuruk O, Leung DYM. Clinical applications of cytokines: new directions in the therapy of atopic diseases. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; **79**: 5-20.
150. Clayton MH, Leung DYM, Surs W, Szefer SJ. Altered glucocorticoid receptor binding in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1995; **96**: 421-423.
151. Nimmagadda SR, Szefer SJ, Spahn JD, Surs W, Leung DYM. Allergen exposure decrease glucocorticoid receptor binding affinity and steroid responsiveness in atopic asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; **155**: 87-93.
152. Hauk P, Hamid QA, Chrousos GP, Leung DYM. Induction of corticosteroid insensitivity in human PBMCs by microbial superantigens. *J Allergy Clin Immunol* 2000; **105**: 782-787.
153. Bamberger CM, Bamberger A-M, de Castro M, Chrousos GP. Glucocorticoid receptor  $\beta$ , a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid actions in humans. *J Clin Invest* 1995; **95**: 2435-2441.
154. Wachs GN, Maibach HI. Co-operative double-blind trial of an antibiotic/corticoid combination in impetiginized atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1976; **95**: 323-328.
155. Nilsson EJ, Henning CG, Magnusson J, Sundsvall BS. Topical corticosteroids and staphylococcus aureus in atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 1992; **27**: 29-34.
156. Stalder JF, Fleury M, Sourisse M, Rostin M, Pheline F, Litoux P. Local steroid therapy and bacterial skin flora in atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1994; **131**: 536-540.
157. Pacocha SE, Oriente A, Huang S-K, Essayan DM. Regulation of antigen-induced human T-lymphocyte responses by calcineurin antagonists. *J Allergy Clin Immunol* 1999; **104**: 828-835.
158. Mollison KW, Fey TA, Gauvin DM, Kolano RM, Sheets MP, Smith ML, Pong M, Nikolaidis NM, Lane BC, Trevillyan JM, Cannon J, Marsh K, Carter GW, Or Y-S, Chen Y-W, Hsieh GC, Luly JR. A macrolactam inhibitor of t helper type 1 and t helper type 2 cytokine biosynthesis for topical treatment of inflammatory skin diseases. *J Invest Dermatol* 1999; **112**: 729-738.
159. Meingassner JG, Grassberger M, Fahrngruber H, Moore HD, Schuurmann H, Stutz A. A novel anti-inflammatory drug, SDZ ASM 981, for the topical and oral treatment of skin diseases: in vivo pharmacology. *Br J Dermatol* 1997; **137**: 568-576.
160. Sowden JM, Berth-Jones J, Ross JS, Motley RJ, Marks R, Finlay AY, Salek MS, Graham-Brown RA, Allen BR, Camp RD. Double-blind, controlled, cross-over study of cyclosporin in adults with severe refractory atopic dermatitis. *Lancet* 1991; **338**: 137-140.
161. Berth-Jones J, Finlay AY, Zaki I, Tan B, Goodyear H, Lewis-Jones S, Cork MJ, Bleehen SS, Salek MS, Allen BR, Smith S, Graham-Brown RA. Cyclosporine in severe childhood dermatitis: A multicenter study. *J Am Acad Dermatol* 1996; **34**: 1016-1021.
162. Harper JL, Ahmed I, Barclay G, Lacour M, Hoeger P, Cork MJ, Finnlay AY, Wilson NJ, Graham-Brown RA, Sowden JM, Beard AL, Sumner MJ, Berth-Jones J. Cyclosporin for severe childhood dermatitis: short course versus continuous therapy. *Br J Dermatol* 2000; **142**: 52-58.
163. De Rie MA, Meinardi MM, Bos JD. Lack of efficacy of topical cyclosporin A in atopic dermatitis and allergic contact dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1991; **71**: 452-454.
164. Nakagawa H, Etoh T, Ishibashi Y, Higaki Y, Kawashima M, Torii H, Harada S. Tacrolimus ointment for atopic dermatitis. *Lancet* 1994; **344**: 883.
165. Alaiti S, Kang S, Fiedler VC, Ellis CN, Spurlin DV, Fader D, Ulyanow G, Gadgil SD, Tanase A, Lawrence I, Scotellaro P, Raye K, Bekersky I. Tacrolimus (FK506) ointment for atopic dermatitis: a phase I study in adults and children. *J Am Acad Dermatol* 1998; **38**: 69-76.

166. Ruzicka T, Bieber T, Schöpf E, Rubins A, Dobozy A, Bos JD, Jablonska S, Ahmed I, Thestrup-Petersen KK, Daniel F, Finzi A, Reitamo S. European Tacrolimus Multicenter Atopic Dermatitis Study Group. A short-term trial of tacrolimus ointment for atopic dermatitis. *N Engl J Med* 1997; 337: 816-821.
167. Boguniewicz A, Fielder VC, Raimer S, Lawrence ID, Leung DYM, Hanifin JM. A randomised vehicle-controlled trial of tacrolimus ointment for treatment of atopic dermatitis in children. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 637-644.
168. Lubach D, Rath J, Kietzmann M. Skin atrophy induced by initial continuous topical application of clobetasol followed by intermittent application. *Dermatology* 1995; 190: 51-55.
169. Reitamo S, Rissanen J, Remitz A, Granlund H, Erkkö P, Elg P, Autio P, Lauerma AJ. Tacrolimus ointment does not affect collagen synthesis: results of a single-center randomized trial. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 396-398.
170. Japanese FK506 study group. Long-term study of FK506 (tacrolimus) ointment in patients with atopic dermatitis. *Rinsho Iyaku* 1998; 14: 2405-2432.
171. Graeber M, van Leent EJM, Burtin P et al. Profiling SDZ ASM 981: evaluation of local tolerability and safety in the treatment of atopic dermatitis. *Ann Dermatol Venereol* 1998; 125 (suppl. 1): 214-215.
172. Van Leent EJM, Graeber M, Thurston M, Wagenaar A, Spuls PI, Bos JD. Effectiveness of the ascomycin macrolactam SDZ ASM 981 in the topical treatment of atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1998; 134: 805-809.
173. Van Leent EJM, Graeber M, Ebelin ME et al. Efficacy and safety of SDZ ASM 981 cream in atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol* 1999; 12 (Suppl. 2): 51.
174. Harper J, Green A, Ebelin ME, Scott G, Burtin P. Low systemic SDZ ASM 981 concentrations in children 1-4 years old treated with 1% cream for their atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol* 1999; 12 (Suppl. 2): 159.
175. Morris A, Cardno M, Burtin P, Scott G, Ebelin ME, Allen R. Low systemic SDZ ASM 981 exposure in children 5-16 years old treated with 1% cream for their atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol* 1999; 12 (Suppl. 2): 160.
176. Queille-Roussel C, Paul C, Duteil L et al. A randomised, double-blind, controlled study on the atrophogenic potential of SDZ ASM 981. *J Eur Acad Dermatol* 1999; 12 (Suppl. 2): 350.
177. Kaniwa M, Gately, Gubler U, Chizzonite R, Fargeas C, Delespesse G. Recombinant IL-12 suppresses the synthesis of immunoglobulin E by interleukin-4 stimulated human lymphocytes. *J Clin Invest* 1992; 90: 262-266.
178. Gruschwitz MS, Peters KP, Heese A, Stosiek N, Koch HU, Hornstein OP. Effects of interferon-alpha-2b on the clinical course, inflammatory skin infiltrates and peripheral blood lymphocytes in patients with severe atopic eczema. *Int Arch Allergy Immunol* 1993; 101: 20-30.
179. MacKie RM. Interferon alpha for atopic dermatitis. *Lancet* 1990; 335: 1282-1283.
180. Paukkonen K, Fräki J, Horsmanheimo M. Interferon-alpha treatment decrease the number of blood eosinophils in patients with severe atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1993; 73: 141-142.
181. Butterfield JH, Gleich GJ. Response of six patients with idiopathic hyper eosinophilic syndrome to interferon alpha. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94: 1318-1326.
182. Boguniewicz M, Jaffe HS, Izu A, Sullivan MJ, York D, Geha RS, Leung DYM. Recombinant Gamma Interferon in treatment of patients with atopic dermatitis and elevated IgE levels. *Am J Med* 1990; 88: 365-370.
183. Hanifin JM, Schneider LC, Leung DYM, Ellis CN, Jaffe HS, Izu AE, Bucalo LR, Hirabayashi SE, Tofte SJ, Cantu-Gonzales G et al. Recombinant interferon gamma therapy for atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 189-197.
184. Milewski MJ, Undas A, Kopinski P, Duplaga M, Szczeklik A. Interferon-gamma in the treatment of atopic dermatitis: influence on T-cell activation. *Allergy* 1995; 50: 520-523.

185. Stevens SR, Hanifin JM, Hamilton T, Tofte SJ, Cooper KD. Long-term effectiveness and safety of recombinant human interferon gamma therapy for atopic dermatitis despite unchanged serum IgE levels. *Arch Dermatol* 1998; **134**: 799-804.
186. Kimata H. High dose gammaglobulin treatment for atopic dermatitis. *Arch Dis Child* 1994; **70**: 335-336.
187. Gelfand EW, Landwehr LP, Esterl B, Mazer B. Intravenous immune globulin: an alternative therapy in steroid-dependent allergic diseases. *Clin Exp Immunol* 1996; **104**: 61-67.
188. Jolles S, Hughes J, Rustin M. Intracellular interleukin-4 profiles during high-dose intravenous immunoglobulin treatment of therapy-resistant atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 1999; **40**: 121-123.
189. Carucci JA, Washenik K, Weinstein A, Shupack J, Cohen DE. The leukotriene antagonist Zafirlukast as a therapeutic agent for atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1998; **134**: 785-786.
190. Rystedt I, Stannegard I-L, Strannegard Ö. Infections as contributing factors to atopic dermatitis. *Allergy* 1989; **44** (Suppl. 9): 79-83.
191. Rystedt I, Stannegard I-L, Strannegard Ö. Recurrent viral infections in patients with past or present atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1986; **114**: 575-582.
192. Jones HE, Reinhardt JH, Rinaldi MG. A clinical, mycological and immunological survey for dermatophytosis. *Arch Dermatol* 1973; **107**: 217-222.
193. Kolmer HL, Taketomi EA, Hazen KC, Hughs E, Wilson BB, Platts-Mills TA. Effect of combined antibacterial and antifungal treatment in severe atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; **98**: 702-707.
194. Leyden JE, Marples RR, Kligman AM. Staphylococcus aureus in the lesions of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1974; **90**: 525-530.
195. Aly R, Maibach H, Shinefield H. Microbial flora of atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1977; **113**: 780-782.
196. Hanifin JM, Rogge JL. Staphylococcal infections in patients with atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1977; **113**: 1383-1386.
197. Dahl MC. Staphylococcus aureus and atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1983; **119**: 840-846.
198. Hauser C, Wuethrich B, Matter L, Wilhelm J, Sonnabend W, Schopfer K. Staphylococcus aureus skin colonization in atopic dermatitis patients. *Dermatologica (Basel)* 1985; **170**: 35-39.
199. White MI, Noble WC. Consequences of colonization and infection by staphylococcus aureus in atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 1986; **11**: 34-40.
200. David TJ, Cambridge GC. Bacterial infection and atopic eczema. *Arch Dis Childhood* 1986; **61**: 20-23.
201. Lever R, Hadley K, Downey D, Mackie R. Staphylococcal colonization in atopic dermatitis and the effect of topical mupirocin therapy. *Br J Dermatol* 1988; **119**: 189-198.
202. Masenga J, Garbe C, Wagner J, Orfanos CE. Staphylococcus aureus in atopic dermatitis and in nonatopic dermatitis. *Int J Dermatol* 1990; **29**: 579-582.
203. Ewing CI, Ashcroft C, Gibbs ACC, Jones GA, Connor PJ, David TJ. Flucloxacillin in the treatment of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1998; **138**: 1022-1029.
204. Boguniewicz M, Sampson HA, Bina P, Reiser R, Mc Cormick D, Harbeck R, Leung DYM. Effects of antibiotic treatment on S. aureus colonization in atopic dermatitis. *J Allergy Immunol* 1999; **103** (Suppl 178): Abstract 684.
205. Daud LR, Garralda ME, David TJ. Psychological adjustment in preschool children with atopic eczema. *Arch Dis Childhood* 1993; **69**: 670-676.
206. Lawson V, Lewis-Jones MS, Finlay AY, Reid P, Owens RG. Family impact of childhood atopic dermatitis: The Dermatitis Family Impact Questionnaire. *Br J Dermatol* 1998; **138**: 107-113.

207. Absolon CM, Cotrell D, Eldrige SM, Glover MT. Psychological disturbance in atopic eczema: the extent of the problem in school-aged children. *Br J Dermatol* 1997; 137: 241-245.
208. Su JC, Kemp AS, Varigos GA, Nolan TM. Atopic eczema: its impact on the family and financial cost. *Arch Dis Childhood* 1997; 76: 159-162.
209. Roth RR, James WD. Microbiology of the skin: resident flora ecology, infection. *J Am Acad Dermatol* 1989; 20: 367-390.
210. Ring J, Abeck D, Neuber K. Atopic eczema: role of microorganisms on skin surface. *Allergy* 1992; 47: 265-269.
211. Wirth H, Gloor M, Stoika D. On the sebaceous glands of uninvolved skin of patients suffering from atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1981; 270: 1391-1396.
212. Bibel DJ, Aly R, Shinefield HR et al. Importance of the keratinised epithelial cell in bacterial adherence. *J Invest Dermatol* 1982; 79: 250.
213. Cole GW, Silverberg NL. The adherence of *S. aureus* to human corneocytes. *Arch Dermatol* 1986; 122: 166-169.
214. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 1998; 339: 520-532.
215. Bibel DJ, Aly R, Shinefield HR, Maibach HI. The *Staphylococcus aureus* receptor for fibronectin. *J Invest Dermatol* 1983; 80: 494-496.
216. Kuusela P, Vartio T, Vuento M. Binding sites for streptococci and staphylococci in fibronectin. *Infect Immun* 1984; 45: 433-436.
217. Lopes JD, Reis M, Bretani RR. Presence of laminin receptors in *Staphylococcus aureus*. *Science* 1985; 229: 275-277.
218. Patti JM, Allen BL, Mc Gavin MJ, Höök M. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Ann Rev Microbiol* 1994; 48: 585-617.
219. Falanga V, Campell D, Leyden JJ, Douglas SD. Nasal Carriage of *staphylococcus aureus* and antistaphylococcal immunoglobulin E antibodies in atopic dermatitis. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 452-454.
220. Motala C, Potter PC, Weinberg EG, Malherbe D, Hughes J. Anti-staphylococcus aureus-specific IgE in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 583-589.
221. Nissen D, Pederson LJ, Skov PS, Vandegaard GL, Poulsen LK, Jarlov JO, Karlsmark T, Nolte H. IgE-binding components of staphylococcal enterotoxins in patients with atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; 79: 403-408.
222. Choi Y, Kotzin B, Herron L, Callahan J, Marrack P, Kappler J. Interaction of *staphylococcus aureus* toxin "superantigens" with human T cells. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86: 8941-8945.
223. Kappler J, Kotzin B, Herron L, Gelfand EW, Bigler RD, Boylston A, Carrel S, Posnett DN, Choi Y, Marrack P. V $\beta$ -specific stimulation of human T cells by staphylococcal toxins. *Science* 1989; 244: 811-813.
224. Marrack P, Kappler J. The staphylococcal enterotoxins and their relatives. *Science* 1990; 248: 705-711.
225. Mollick JA, McMasters RL, Grossmann D, Rich R. Localization of a site on bacterial superantigens that determines T cell receptor  $\beta$  chain specificity. *J Exp Med* 1993; 177: 283-293.
226. Li H, Llera A, Tsuchiya D, Leder L, Ysern X, Schlievert PM, Karjalainen K, Mariuzza RA. Three-dimensional structure of the complex between a T cell receptor  $\beta$  chain and the superantigen staphylococcal enterotoxin B. *Immunity* 1998; 9: 807-816.
227. Anderson PS, Lavoie PM, Sekaly R-P, Churchill H, Kranz DM, Schlievert PM, Karjalainen K, Mariuzza RA. Role of the T cell receptor  $\alpha$  chain in stabilizing TCR-Superantigen-MHC class II complexes. *Immunity* 1999; 10: 473-483.
228. Kotzin BL, Leung DYM, Kappler J, Marrack P. Superantigens and human disease. *Adv Immunol* 1993; 54: 99-166.



229. Choi Y, Lafferty JA, Clement JR, Todd JK, Gelfand EW, Kappler J, Marrack P, Kotzin BL. Selective expansion of T cells expressing V $\beta$ 2 in toxic shock syndrome. *J Exp Med* 1990; 172: 981-984.
230. Jupin C, Anderson S, Damais C, Alouf JE, Parant M. Toxic shock syndrome toxin 1 as an inducer of human tumor necrosis factors and  $\gamma$  Interferon. *J Exp Med* 1988; 167: 752-761.
231. Hoeger PH, Lenz W, Boutonnier A, Fournier JM. Staphylococcal skin colonization in children with atopic dermatitis: prevalence, persistence, and transmission of toxigenic and nontoxigenic strains. *J Infect Dis* 1992; 165: 1064-1068.
232. Leung DYM, Harbeck R, Bina P, Reisen RF, Yang E, Norris DA, Hanifin JM, Sampson HA. Presence of IgE antibodies to staphylococcal exotoxins on the skin of patients with atopic dermatitis. Evidence for a new group of allergens. *J Clin Invest* 1993; 92: 1374-1380.
233. Mc Fadden JP, Noble WC, Camp RDR. Superantigenic exotoxin-secreting potential of staphylococci isolated from atopic eczematous skin. *Br J Dermatol* 1993; 128: 631-632.
234. Michie CA, Davis T. Atopic dermatitis and staphylococcal superantigens. *Lancet* 1996; 347: 329.
235. Akiyama H, Toy Y, Kanzaki H, Tada J, Arata J. Prevalence of producers of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin-1 among staphylococcus aureus strains isolated from atopic dermatitis lesions. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 418-420.
236. Jappe U, Heuck D, Witte W, Gollnick H. Superantigen production by staphylococcus aureus in atopic dermatitis: No more than a coincidence. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 844-845.
237. Herz U, Schnoy N, Borelle S, Weigl L, Käsbohrer U, Daser A, Wahn U, Köttgen E, Renz H. A Human-SCID mouse model for allergic immune responses: bacterial superantigens enhances skin inflammation and suppress IgE production. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 224-231.
238. Tokura Y, Yagi J, O'Malley M, Lewis JM, Takigawa M, Edelson RL, Tigelaar RE. Superantigenic staphylococcal exotoxins induce T-cell proliferation in the presence of Langerhans cells or class II-bearing keratinocytes and stimulate keratinocytes to produce T-cell activating cytokines. *J Invest Dermatol* 1994; 102: 31-38.
239. Wakita H, Tokura Y, Furukawa F, Takigawa M. Staphylococcal enterotoxin B upregulates expression of ICAM-1 molecules on IFN- $\gamma$  - treated keratinocyte and keratinocyte cell lines. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 536-542.
240. Grossmann D, Cook RG, Sparrow JT, Mollick JA, Rich RR. Dissociation of the stimulatory activities of staphylococcal enterotoxins for T cells and monocytes. *J Exp Med* 1990; 172: 1831-1841.
241. Ezechuk YV, Leung DYM, Middleton MH, Bina P, Reiser R, Norris DA. Staphylococcal toxins and protein A differentially induce cytotoxicity and release tumor necrosis factor from human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1996; 107: 603-609.
242. Leung DYM, Cotran RS, Pober JS. Expression of an endothelial leukocyte adhesion molecule (ELAM-1) in elicited late phase allergic skin reactions. *J Clin Invest* 1991; 87: 1805-1810.
243. Lester MR, Hofer MF, Renz H, Trumble AE, Gelfand EW, Leung DYM. Modulatory Effects of staphylococcal superantigen TSST-1 on IgE synthesis in atopic dermatitis. *Clin Immunol Immunopathology* 1995; 77: 332-338.
244. Hofer MF, Harbeck RJ, Schlievert PM, Leung DYM. Staphylococcal toxins augment specific IgE response by patients exposed to allergen. *J Invest Dermatol* 1999; 112: 171-176.

245. Neuber K, Steinrücke K, Ring J. Staphylococcal enterotoxin B affects in vivo IgE synthesis, Interferon- $\gamma$ , Interleukin-4 and Interleukin-5 production in atopic eczema. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 107: 179-182.
246. Bright JJ, Xin Z, Sriram S. Superantigens augment antigen-specific Th1 responses by inducing IL-12 production in macrophages. *J Leukoc Biol* 1999; 65: 665-670.
247. Leung DYM, Gately M, Trumble A, Ferguson-Darnell B, Schlievert PM, Picker LJ. Bacterial superantigens induce T cell expression of the skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA), via stimulation of interleukin 12 production. *J Exp Med* 1995; 181: 747-753.
248. Akdis M, Simon HU, Weigl L, Kreyden O, Blaser K, Akdis CA. Skin homing (cutaneous lymphocyte-associated antigen-positive) CD8<sup>+</sup> T cells respond to superantigen and contribute to eosinophilia and IgE production in atopic dermatitis. *J Immunol* 1999; 163: 466-475.
249. Campbell DE, Kemp AS. Proliferation and production of interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) and IL-4 in response to staphylococcus aureus and staphylococcal superantigen in childhood dermatitis. *Clin Exp Immunol* 1997; 107: 392-397.
250. Bratton DL, May KR, Kailey JM, Doherty DE, Leung DYM. Staphylococcal toxic shock syndrome toxin-1 inhibits monocyte apoptosis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 895-900.
251. Bright JJ, Xin Z, Siram S. Superantigenes augment antigen-specific Th1 responses by inducing IL-12 production in macrophages. *J Leukoc Biol* 1999; 65: 665-670.
252. Kunz B, Oranje AP, Labréze L, Staldor J-F, Ring J, Taïieb A. Clinical validation and guidelines for the SCORAD Index: Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1997; 186: 10-19.
253. Isenberg HD. Clinical microbiology procedures handbook. Volume 1. Washington. ASM, 1992
254. Leroux M, Schindler L, Braun R, Doerr HW, Geisen HP, Kircjner H. A whole-blood lymphoproliferation assay for measuring cellular immunity against herpes virus. *J Immunol Methods* 1985; 79: 251-262.
255. Werfel T, Hentschel M, Kapp A, Renz H. Dichotomy of blood-and skin-derived IL-4 producing allergen-specific T cells and restricted V $\beta$  repertoire in nickel mediated contact dermatitis. *J Immunol* 1997; 158: 2500-2505.
256. Cordell JL, Falini B, Erber WN, Ghosh AK, Abdulaziz Z, MacDonald S, Pulford KA, Stein H, Mason DY. Immunoenzymatic labelling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP complexes). *J Histochem Cytochem* 1984; 32: 219-229.
257. Von Rűden U, Staab D, Kehrt R, Wahn U. Entwicklung und Validierung eines krankheits-spezifischen Fragebogens zur Erfassung der Lebensqualität von Eltern neurodermitis-kranker Kinder. *Z f Gesundheitswissenschaften* 1999; 4: 335-350.
258. Bunikowski R, Mielke MEA, Skarabis H, Worm M, Anagnostopoulos I, Kolde G, Wahn U, Renz H. Evidence for a disease-promoting effect of staphylococcus aureus-derived exotoxins in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 814-819.
259. Bunikowski R, Mielke M, Skarabis H, Herz U, Bergmann RL, Wahn U, Renz H. Prevalence and role of serum IgE antibodies to the staphylococcus aureus-derived superantigens SEA and SEB in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 119-124.
260. Brosius CL, Newburger JC, Burns JC, Leung DYM. Association of Kawasaki syndrome with atopic dermatitis. *J Ped Infect Dis* 1988; 7: 863-866.
261. Ha SJ, Lee HJ, Byun DG, Kim JW. Expression of T cell receptor v beta chain in lesional skin of atopic dermatitis. *Acta Derm Venerol* 1998; 78: 424-427.
262. Neuber K, Loliger C, Kohler I, Ring J. Preferential expression of T-cell receptor v beta-chains in atopic eczema. *Acta Derm Venerol* 1996; 76: 214-218.

263. Zollner TM, Wichelhaus TA, Hartung A, von Mallinckrodt C, Wagner TO, Brade V, Kaufmann R. Colonization with superantigen-producing staphylococcus aureus is associated with increased severity of atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 2000; **30**: 994-1000.
264. Davison S, Allen M, Vaughan R, Barker J. Staphylococcal toxin-induced T cell proliferation in atopic eczema correlates with increased use of superantigen-reactive V $\beta$ -chains in cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA)-positive lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 2000; **121**: 181-186.
265. Strange P, Skov L, Lisby S, Nielsen PL, Baadsgaard O. Staphylococcal enterotoxin B applied on intact normal and intact atopic skin induces dermatitis. *Arch Dermatol* 1996; **132**: 27-33.
266. Skov L, Olsen JV, Giorno R, Schlievert PM, Baadsgaard O, Leung DYM. Application of staphylococcal enterotoxin B on normal and atopic skin induces up-regulation of T cells by a superantigen-mediated mechanism. *J Allergy Immunol* 2000; **105**: 820-826.
267. Leung DYM, Cotran RS, Pober JS. Expression of an endothelial leukocyte adhesion molecule (ELAM-1) in elicited late phase allergic skin reactions. *J Clin Invest* 1991; **87**: 1805-1810.
268. Nomura I, Tanaka K, Tomita H, Katsuna T, Ohya Y, Ikeda N, Takeda T, Saito H, Akasawa A. Evaluation of the staphylococcal exotoxins and their specific IgE in childhood atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; **104**: 441-446.
269. Ross JS, Camp RDR. Cyclosporin A in atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1990; **122**: 41-45.
270. Boeni R, Drummer R. Abcessed Inflammation as a serious complication of low dose cyclosporin A in atopic dermatitis. *Eur J Dermatol* 1995; **5**: 268-269.

## **Danksagung**

Eine im Wortsinne „existentielle“ Voraussetzung war das Förderprogramm für Nachwuchswissenschaftlerinnen aus dem Sonderprogramm des Berliner Senats. Mein Dank gilt daher den Initiatorinnen und Initiatoren und denjenigen, die die Förderentscheidung getroffen haben. Ganz besonders gilt er in diesem Zusammenhang meiner leider schon verstorbenen akademischen Lehrerin Frau Prof. Dr. Meta Alexander. Sie hat mich mit der ihr eigenen Energie auf den wissenschaftlichen Weg gebracht und den Förderantrag intensiv unterstützt, obwohl sie persönlich der Meinung war, dass es eines speziellen Frauenförderprogramms in der heutigen Gesellschaft nicht mehr bedürfe. Sie hat meine Arbeit auch nach ihrem Eintritt in den Ruhestand immer wieder begleitet und mich mit Ermunterungen unterstützt.

Meinen besonderen Dank möchte ich Herrn Prof. Dr. Wahn aussprechen. Er hat nach meinem Wechsel in die Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie ab Januar 1995 meine Betreuung übernommen. In Anlehnung an meine früheren Forschungstätigkeiten wurde dann dieses Forschungsvorhaben formuliert. Herr Prof. Dr. Wahn hat mich sehr zu dieser Arbeit motiviert und mir in großzügiger Weise die Durchführung der Experimente ermöglicht. Ich habe in der praktischen klinischen Tätigkeit und im wissenschaftlichen Bereich in der von ihm geleiteten Klinik von seinen umfangreichen Erfahrungen und seinen kritischen und hilfreichen Ratschlägen in hohem Masse Gewinn gezogen.

Herrn Prof. Dr. Renz möchte ich danken für die vertrauensvolle fachliche Unterstützung und die geduldigen Erörterungen hauptsächlich von Methodenfragen, die zur Durchführung der vorliegenden Studien dienten. Hilfreich waren ebenso die kritischen Gespräche über die Ergebnisse.

Weiterhin möchte ich Herrn Prof. Dr. Skarabis und Herrn Prof. Dr. Mielke für die jahrelange freundschaftliche Verbundenheit und für ihre hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung des Projektes danken, ebenso Frau Dr. Worm und Herrn Dr. Anagnostoupolus.

Für die geleistete Hilfe bei der Durchführung der Experimente danke ich den technischen Assistentinnen Frau Schulze, Frau Oberreith-Meneses-Vogel und Frau Ellensohn, da ohne deren fachkompetenten und engagierten Arbeitseinsatz viele der hier zusammengestellten Untersuchungen gar nicht möglich gewesen wären.

Meinen Freunden/innen Bettina Beckenbach, Gisela Lohse, Jürgen Hofmann und Arthur O'Connor möchte ich für die Durchsicht des Manuskripts, für zahlreiche „Rettungen“ aus EDV-Problemen und für die Unterstützung bei der Erstellung der digitalisierten Version der Arbeit danken.

Schließlich danke ich meinem Lebensgefährten, meiner Familie und meinen Freunden, die ich während der Erstellung dieser Arbeit vernachlässigt habe und die mich trotzdem durch ihre Geduld und ihr Verständnis in meinem Vorhaben unterstützt haben.

Berlin 2001

## Lebenslauf

Name:	Dr. Rita Bunikowski
geboren am:	18. Oktober 1955 in Ochsendorf
Wohnort:	Sybelstraße 13, 10629 Berlin
Religion:	evangelisch-lutherisch
Eltern:	Oskar Bunikowski, Landwirt Anna Bunikowski, geb. Schur, Hausfrau
1962 bis 1971	Grundschule
1971 bis 1976	Schule für Frauenberufe, Braunschweig Abschluß: Fachgebundenes Abitur
Nov. 1976 bis Juni 1977	Mitarbeiterin des Jugendamtes Braunschweig, Abteilung Jugendförderung
Juni 1977 bis Okt. 1977	Pflegehelferin (Nachtwache) Städtisches Krankenhaus, Braunschweig
Okt. 1977 bis April 1979	Studium der Sozialarbeit, FHSS Berlin Abschluß: Vorprüfung (im Land Berlin der allgemeinen Hochschulreife gleichgesetzt)
Okt. 1979 bis April 1986	Studium der Humanmedizin, FU Berlin Abschluß: Staatsexamen
Jan. 1986 bis Dez. 1986	Mitarbeit in AIDS-Projekten am Soziologischen Institut der FU Berlin (Werkverträge)
Jan. 1987 bis Sept. 1987	Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Bundesgesundheitsamt, Berlin, Institut für Arzneimittel, Abteilung Aufbereitung und Nachzulassung, Fachgebiet Kardiologie, Angiologie und Nephrologie
Mai 1987	Promotion an der FU Berlin Referentin: Frau Prof. Dr. M. Alexander
Okt. 1987 bis April 1990	Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Bundesgesundheitsamt, Berlin, AIDS-Zentrum, Fachgebiet Epidemiologie
April 1990 bis Dez. 1990	Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Bundesgesundheitsamt, Berlin, Institut für Arzneimittel, Abteilung Experimentelle und Klinische Pharmakologie, Fachgebiet Kardiologie und Angiologie
Jan. 1991 bis Juli 1991	Wissenschaftliche Assistentin an der FU Berlin, Klinikum Rudolf-Virchow, Standort Charlottenburg, Abteilung Innere Medizin mit Schwerpunkt Infektiologie
Aug. 1991 bis Jan. 1995	Wissenschaftliche Assistentin an der FU Berlin, Klinikum Rudolf-Virchow, Kinderklinik, Kauserin-Auguste-Victoria-Haus, Schwerpunkt HIV-Arbeitsgruppe der Kinderklinik
ab Jan. 1995	Wissenschaftliche Assistentin an der Humboldt-Universität, Campus Rudolf-Virchow, Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie
Mai 1997	Anerkennung als Fachärztin für Kinderheilkunde

## **EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG**

gemäß Habilitationsordnung der Charité

Hiermit erkläre ich, daß

- keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungsverfahren anhängig sind,
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde bzw. welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte;
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfaßt, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
- der Bewerberin oder dem Bewerber die geltende Habilitationsordnung bekannt ist,

.....  
Datum

.....  
Unterschrift